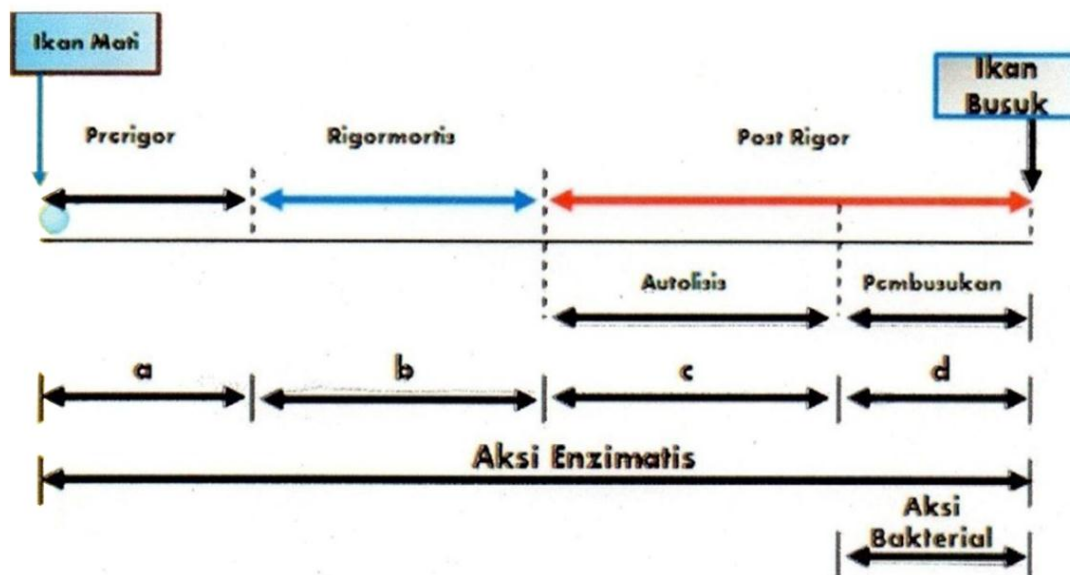


METODE PENENTUAN MUTU HASIL PERIKANAN Berkandungan Hasil-Hasil Penelitian

I Ketut Suwetja & Feny Mentang



METODE PENENTUAN MUTU HASIL PERIKANAN
Oleh: Prof. Dr. Ir. I Ketut Suwetja, M.Sc

Hak Cipta @ 2018 pada Penulis

Hak Cipta dilindungi undang-undang

Dilarang memperbanyak atau memindahkan sebagian atau seluruh isi buku ini dalam bentuk apapun, baik secara elektronik maupun mekanis, termasuk memfotocopy, merekam, atau dengan sistem penyimpanan lainnya, tanpa izin tertulis dari Penulis.

Diterbitkan oleh:

**LEMBAGA PENELITIAN DAN PENGABDIAN
KEPADA MASYARAKAT,
UNIVERSITAS SAM RATULANGI
(LPPM UNSRAT)**

Redaksi:

Jl. Kampus Unsrat, Manado – Sulawesi Utara. 95115.

ISBN 978-602-60359-8-1

KATA PENGANTAR

Sehubungan dengan banyaknya permintaan tentang rangkuman prinsip penelitian, metode penelitian dalam penentuan mutu hasil perikanan yang telah dilakukan selama ini, maka buku ini disusun dan diterbitkan. Prinsip penentuan telah disusun secara ringkas dari tiap penentuan mutu yang ada. Metode penentuan mutu dirangkum dari beberapa metode penentuan mutu yang telah dilakukan. Hasil-hasil penelitian dalam penentuan mutu hasil perikanan memuat hasil-hasil penelitian yang dilakukan bersama-sama dengan mahasiswa program sarjana, pasca sarjana dan dosen yang berkecimpung dalam topik yang sama.

Prinsip dan teori penentuan mutu hasil perikanan sangatlah penting diketahui dan dijelaskan terlebih dahulu sebelum mengetahui dan menjelaskan tentang metode dan hasil-hasil penelitian diperlukan untuk memahami filosofi dari setiap metode penentuan mutu yang ada. Bila tidak memahami prinsip penentuan mutu, maka metode penentuan mutu akan menjadi seperti prosedur pengujian saja.

Hasil-hasil penelitian juga sangat penting dimuat untuk menopang dan membuktikan bahwa prinsip dan metode dapat terlaksana dengan baik dan dapat dipertanggung jawabkan. Selain itu, pengertian buku referensi ialah buku yang memuat hasil-hasil penelitian penyusunnya.

Penentuan mutu hasil perikanan dapat dibagi menjadi 3 bagian besar yaitu penentuan mutu akibat kerja enzim dalam tubuh ikan dan penentuan mutu akibat kerja dari enzim dalam mikroba yang mengkontaminasi tubuh ikan, serta penentuan mutu akibat kerusakan lipida dalam tubuh ikan tersebut. Mutu hasil perikanan akibat kerja dari enzim dalam tubuh ikan dapat ditentukan dengan metode uji nilai – K dan uji nilai-Mb. Mutu hasil perikanan akibat kerja enzim dalam

mikroba dapat ditentukan dengan metode uji TVB-N, TMAN, Histamin dan pH. Sedangkan mutu hasil perikanan akibat kerusakan oleh oksidasi lipida dapat ditentukan dengan metode uji POV dan TBA.

Pada kesempatan ini penulis mengucapkan terima kasih kepada para Mahasiswa program S1, S2 dan Dosen-dosen yang hasil penelitiannya dimuat dalam buku ini.

DAFTAR ISI

	Hal
PRAKATA.....	i
DAFTAR ISI.....	iii
DAFTAR TABEL.....	v
DAFTAR GAMBAR.....	viii
BAB 1 PENDAHULUAN.....	1
BAB 2 METODE PENENTUAN NILAI-K.....	5
1.2. Prinsip Penentuan.....	5
2.2. Metode Penentuan.....	9
2.3. Hasil-Hasil Penelitian.....	11
BAB 3 METODE PENENTUAN NILAI TVB-N.....	19
3.1. Prinsip Penentuan.....	19
3.2. Metode Penentuan.....	22
3.3. Hasil-Hasil Penelitian.....	25
BAB 4 METODE PENENTUAN NILAI TMA-N.....	51
4.1. Prinsip Penentuan.....	51
4.2. Metode Penentuan.....	60
4.3. Hasil-Hasil Penelitian.....	64
BAB 5 METODE PENENTUAN KADAR HISTAMIN.....	72
5.1. Prinsip Penentuan.....	72
5.2. Metode Penentuan.....	86
5.3. Hasil-Hasil Penelitian.....	103
BAB 6 METODE PENENTUAN KADAR UREA.....	121
6.1. Prinsip Penentuan.....	121
6.2. Metode Penentuan.....	132
6.3. Hasil-Hasil Penelitian.....	138
BAB 7 METODE PENENTUAN BILANGAN PEROKSIDA.....	150
7.1. Prinsip Penentuan.....	150
7.2. Metode Penentuan.....	166
7.3. Hasil-Hasil Penelitian.....	170

BAB 8 METODE PENENTUAN ANGKA TBA	184
8.1. Prinsip Penentuan	184
8.2. Metode Penentuan.....	186
8.3. Hasil-Hasil Penelitian	196
DAFTAR PUSTAKA	209
INDEX	219
TENTANG PENULIS	222

DAFTAR TABEL

Tabel 2.1.	Nilai-K Ikan Tuna Madidihang yang Disimpan di Dalam Es Selama 14 Hari.....	14
Tabel 2.2.	Nilai-K ikan Cakalang yang Disimpan di Dalam Es Selama 14 Hari	14
Tabel 3.1.	Nilai TVB-N Ikan Tuna Madidihang yang Disimpan di Dalam Es Selama 14 Hari.....	27
Tabel 3.2.	Nilai TVB-N Ikan Tuna Madidihang yang Disimpan di Dalam Es Selama 14 Hari.....	28
Tabel 3.3.	Data Nilai Rata-Rata TVB-N dalam mg N/100 g Daging Ikan Layang Dari 4 Perlakuan Konsentrasi Es Air Kelapa	29
Tabel 3.4.	Data Nilai Rata-rata TVB-N dalam mg N/100 g daging dari 4 Periode lama penyimpanan	29
Tabel 3.5.	Nilai TVB (<i>Total Volatile Base</i>) Pada Beberapa Jenis Ikan Sampel Sesaat Setelah Dimatikan.....	33
Tabel 3.6.	Nilai TVB (<i>Total Volatile Base</i>) Pada Beberapa Jenis Ikan Sampel Sesaat Setelah Full Rigor	33
Tabel 3.7.	Hasil Analisis Sidik Ragam Nilai TVB-N Ikan Layang.....	70
Tabel 4.1.	Kandungan TMAO pada beberapa jenis ikan	50
Tabel 4.2.	Data TMA-N dalam mg N/100 g daging	65
Tabel 4.3.	Data Nilai Rata-rata TMA-N Dalam Daging Dari 4 Periode Lama Penyimpanan.....	66
Tabel 4.4.	Data nilai rata-rata TMA-N dalam daging dari 4 perlakuan konsentrasi (0, 25, 50 dan 75%)	66

Tabel 4.5.	Data Hubungan Antara Konsentrasi Lama Penyimpanan Terhadap Nilai Rata-rata TMA-N Dalam Daging	69
Tabel 5.1.	Bakteri Penghasil Histamin Yang Terdapat Pada Ikan Laut.....	76
Tabel 5.2.	Batasan Standar Histamin Beberapa Produk Perikanan Ekspor.....	80
Tabel 5.3.	Pengaturan Batas Hastamine Oleh Beberapa Negara	80
Tabel 5.4.	Kadar Histamin Pada Ikan Cakalang dan Ikan Layang Yang Direndam Pada Air Kelapa Selama 15 Menit	103
Tabel 5.5.	Kandungan histamin, <i>Proteus</i> dan <i>Pseudomonas</i> ikan tongkol yang disimpan pada suhu es	107
Tabel 5.6.	Hasil Uji Histamin Pada Beberapa Jenis Produk Komoditi Ikan (PPM)	114
Tabel 5.7.	Hasil Perhitungan Nilai Histamin	115
Tabel 5.8.	Hasil Analisis Sidik Ragam Nilai Kandungan Histamin Ikan Layang	119
Tabel 6.1.	Kandungan Urea dari Berbagai Jenis Ikan Cucut	124
Tabel 6.2.	Komposisi Kimia Daging Ikan Cucut	130
Tabel 6.3.	Kandungan Urea Dari Berbagai Jenis Cucut..	130
Tabel 6.4.	Data Pengamatan Kadar Urea Fillet Ikan Cucut (<i>Carcharhimus limbatus</i>) Asap.....	140
Tabel 6.5.	Data Urea (%) Daging Cucut Mentah Yang Tidak Dan Yang Diberikan Perlakuan Penanganan Awal.....	149
Tabel 6.6.	Data Urea Terlarut (%) Daging Cucut Mentah Yang Tidak dan Yang Diberikan Perlakuan Penanganan Awal.....	189

Tabel 7.1.	Data hasil analisa bilangan peroksida ham cakalang.....	170
Tabel 7.2.	Analisa sidik ragam bilangan peroksida ham cakalang.....	171
Tabel 7.3.	Analisis Ragam Pengaruh Konsentrasi Tepung Kelapa dan Lama Penyimpanan Terhadap Bilangan Peroksida Nugget Ikan....	176
Tabel 7.4.	Bilangan Peroksida (PoV) dan TBA Minyak Ikan Tongkol (<i>Euthynnus affinis</i>) dan Ikan Lele (<i>Clarias</i> sp).....	181
Tabel 8.1.	Data hasil analisa angka TBA Ham Cakalang	
Tabel 8.2.	Analisa sidik ragam nilai TBA Ham Cakalang.....	197
Tabel 8.3.	Hasil Analisis Sidik Ragam Pengaruh Perlakuan Terhadap Nilai TBA Dendeng Ikan Layang Giling.....	198
Tabel 8.4.	Data Pengaruh Perlakuan Terhadap Nilai TBA Dendeng Ikan Layang Giling	202

DAFTAR GAMBAR

Gambar 1.2.	Perubahan-Perubahan Yang Terjadi Pada Ikan Mati oleh Aksi Enzimatis dan Bakterial	2
Gambar 2.1	Periode memperthankan tingkat kesegaran dan jangka waktu penyimpanan yang baik daging ikan kembung selama penyimpanan pada beberapa tingkatan suhu rendah.....	12
Gambar 2.2.	Periode mempertahankan tingkat kesegaran dan jangka waktu penyimpanan yang baik daging udang selama penyimpanan pada beberapa tingkatan suhu rendah.....	13
Gambar 2.3.	Prubahan Nilai-K Daging Ikan Tuna Selama Penanganan Dengan dan Tanpa Karung Goni Basah	16
Gambar 3.1.	Diagram Alir Analisa TVB-N (<i>Total Volatile Base Nitrogen</i>)	25
Gambar 3.2.	Nilai TVB-N Ikan Tuna Madidihang dan Cakalang.....	26
Gambar 3.3.	Grafik Hubungan Antara Nilai TVB-N dengan Konsentrasi Es Air Kelapa. Nilai adalah rata-rata dari 4 periode lama penyimpanan.....	30
Gambar 3.4.	Hubungan Nilai TVB-N Ikan “ <i>Rahiang</i> ” Dengan Lama Penyimpanan.....	35
Gambar 3.5.	Histogram Nilai TVB-N Terhadap Lama Penyimpanan	38
Gambar 3.6.	Histogram Hubungan Waktu Pengambilan Sampel dan Pedagang yang Berbeda Dengan Nilai TVB-N Ikan Tongkol Segar	41

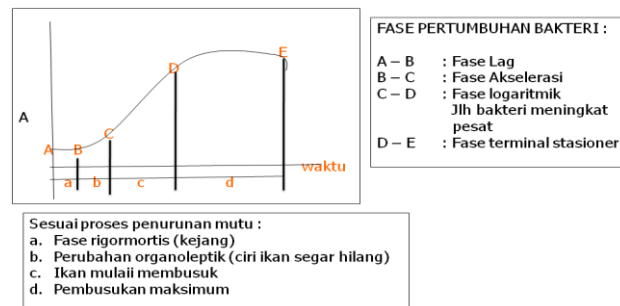
Gambar 3.7.	Nilai TVB-N Ikan Julung-Julung (<i>Hemirhamphus</i> sp) Asap Selama Penyimpanan 0, 7, 14 dan 21 hari	45
Gambar 3.8	Nilai TVB-N Penyimpanan Selama Beberapa Hari Dengan Temperatur yang Berbeda.....	47
Gambar 3.9.	Penyimpanan Mackerel Dengan Suhu Sebagai Penjelasan Uji TVB-N	48
Gambar 3.10.	Nilai TVB-N Penyimpanan Udang Selama Beberapa Hari Dengan Temperatur Rendah yang Berbeda.....	49
Gambar 3.11.	Penyimpanan Udang Dengan Suhu Sebagai Penjelasan Uji TVB-N	50
Gambar 4.1.	Struktur TMAO dan turunan-turunannya..	55
Gambar 4.2.	Grafik hubungan antara konsentrasi es air kelapa dengan TMA-N daging	67
Gambar 4.3.	Grafik hubungan antara lama penyimpanan dengan nilai TMA-N.....	68
Gambar 4.4.	Hubungan antara konsentrasi dan lama penyimpanan terhadap nilai TMA-N dalam daging	70
Gambar 5.1.	Reaksi Kimia Perubahan Histidin Menjadi Histamin (sumber : Suwandi <i>dkk.</i> , 1989) ..	85
Gambar 5.2.	Histogram Nilai Histamin Terhadap Lama Penyimpanan	117
Gambar 6.1.	Siklus urea (Stryer, 1975 <i>dalam</i> Berhimon, 1982).....	131
Gambar 6.2	Histogram Hubungan Antara Jenis Bahan Bakar Dan Metode Pengasapan dan Lama Penyimpanan Terhadap Kadar Urea Fillet Ikan Cucut (<i>Carcharhimus limbatus</i>) Asap	141

Gambar 6.3.	Hubungan Antara Jenis Bahan Bakar dan Lama Penyimpanan Terhadap Kadar Urea Fillet Ikan Cucut (<i>Carcharhimus limbatus</i>) Asap.....	141
Gambar 6.4.	Perbandingan Jumlah Urea (%) Daging Mentah Yang Tidak Dan Yang Diberikan Perlakuan Penanganan Awal	143
Gambar 6.5.	Perbandingan Jumlah Urea dan Protein Terlarut (%) Daging Cucut Mentah Dalam Larutan NaCL 10% dan asam cuka 2%	146
Gambar 6.6.	Perbandingan Jumlah Urea dan Protein Terlarut (%) Daging Cucut Mentah Dalam Air Panas Bersuhu Sekitar 100°C.....	147
Gambar 6.7.	Perbandingan Jumlah Urea dan Protein Terlarut (%) Daging Cucut Mentah Dalam Air Tawar Bersuhu Sekitar 27°C.....	148
Gambar 7.1	Rumus Struktur BHA, BHT dan PG	163
Gambar 7.2.	Hubungan antara pemberian asam askorbat, cara pengemasan dan lama penyimpanan.....	173
Gambar 7.3.	Histogram hubungan antara konsentrasi tepung kelapa dan lama penyimpanan terhadap nilai peroksida nugget ikan	174
Gambar 7.4.	Histogram Bilangan Peroksida	149
Gambar 8.1.	Ham yang diberi asam askorbat 2% dan dikemas secara vakum selama penyimpanan.....	199
Gambar 8.2.	Hubungan antara penambahan lemak-margarin dan lama penyimpanan pada suhu kamar terhadap nilai TBA dendeng ikan layang giling	203

BAB 1 PENDAHULUAN

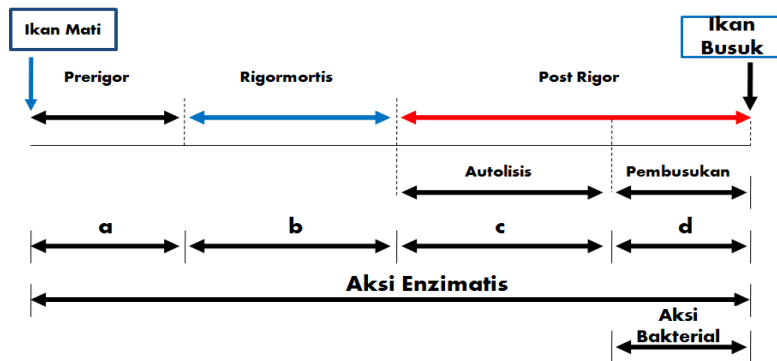
Ikan mengalami deteriorasi ialah ikan yang berkurang daya awetnya atau ikan yang menurun mutunya yang ditandai dengan tahapan-tahapan sebagai berikut: 1) Enzim tubuh ikan menguraikan daging; 2) Bakteri dari tiga bagian pemustan bakteri yaitu insang, isi perut dan lendir permukaan tubuh masuk ke dalam daging dan sekitarnya; 3) Enzim bakteri ikut menguraikan daging; 4) Hasil uraian oleh enzim-enzim tersebut, merupakan zat hara bagi bakteri untuk bertumbuh dan berkembang biak sampai jumlah maksimum pada ikan busuk.

Hubungan fase pertumbuhan bakteri dengan pertumbuhan proses penurunan mutu ikan dapat dilihat pada gambar 1.1



Gambar 1.1. Hubungan fase pertumbuhan Bakteri dengan Perubahan Proses Penurunan Mutau Ikan

Perubahan-perubahan yang terjadi pada ikan mati oleh aksi enzimatis dan oleh aksi bacterial dapat dilihat pada gambar 1.2.



Gambar 1.2. Perubahan-Perubahan Yang Terjadi Pada Ikan Mati oleh Aksi Enzimatis dan Bakterial

Keterangan Gambar :

- a. Kondisi ikan amat segar (berkondisi seperti ikan hidup)
- b. Kondisi ikan segar
- c. Kondisi ikan kurang segar
- d. Kondisi ikan tidak segar

Pengertian mutu secara umum ialah nilai-nilai tertentu yang diinginkan pada suatu material atau bahan termasuk bahan pangan ikani yang mencakup nilai gizi, syarat kesehatan dan kesegaran. Bahan pangan bermutu tinggi apabila nilai gizinya tinggi, memenuhi syarat kesehatan dan baik kesegarannya seperti ikan baru ditangkap.

Metode penilaian mutu mencakup dua hal, yaitu secara subjektif dan secara objektif. Metode penilaian mutu secara

subjektif yaitu uji sensoris atau uji organoleptik yang mencakup rupa, warna, kekenyalan, bau, rasa dan kesan umum. Metode penilaian mutu secara objektif mencakup antara lain :

1. Uji proksimat, meliputi: kadar air, kadar protein, kadar lemak, kadar abu, kadar vitamin, kadar mineral, kadar glikogen.
2. Uji kimiawi meliputi: uji pH, uji TVB-N, TMA-N, NPN, free fatty acid, peroksida value, Thio barbituric acid, histamine, indol, nilai-K dan nilai mioglobin serta rigor indeks.
3. Uji fisika meliputi: uji tekstur, uji indeks bias dengan satinometer dan uji kesegaran dengan torry meter.
4. Uji bacterial meliputi: TPC, kapang, uji patogenitas serta uji organism membahayakan. Uji patogenitas antara lain: organisme indikator pencemaran, uji coliform dan uji *Staphylococcus anacus*. Uji organisme membahayakan antara lain: uji *Salmonella* spp, uji *Clostridium botulinum* dan uji *Vibrio parahaemoliticus*.

Faktor-faktor yang mempengaruhi mutu antara lain: faktor alami dan biologis, faktor cara penangkapan dan faktor cara penanganan. Faktor alami dan biologis meliputi: jenis

kelamin, ukuran ikan, musim berpijah, wilayah penangkapan dan suhu perairan serta udara saat ikan ditangkap. Faktor cara penangkapan mencakup cepat atau lambatnya alat tangkap beroperasi. Faktor cara penangkapan mencakup: penanganan di atas kapal, waktu pembongkaran di darat dan di tempat pengolahan, serta selama distribusi, di *display* pemasaran sampai ke tangan konsumen.

BAB 2

METODE PENENTUAN NILAI-K

2.1. Prinsip Penentuan

Metoda pengujian tingkat kesegaran ikan dengan memakai uji nilai-K, sejarahnya adalah sebagai berikut. Untuk pertama kalinya nilai-K sebagai indeks kesegaran ikan dikemukakan oleh SAITO *et. al.* (1959). Mereka mengatakan bahwa dalam penelitiannya pada ikan mas (*Cyprinus carpio*), yang dibekukan secara lambat terjadi penguraian ATP secara cepat terakumulasi pada pembentukan IMP. Selanjutnya IMP berubah perlahan-lahan ke dalam bentuk inosin kemudian hipoksantin. Pada suhu kamar perubahan ini terjadi secara cepat dan sebagai hasil adalah inosin dan hipoksantin, dimana yang lebih banyak terbentuk adalah hipoksantin.

Dengan memakai hasil penelitian ini sebagai dasar, dapat ditentukan kesegaran ikan mentah dan beku dengan menentukan kadar inosin dan hipoksantin. Kadar inosin dan hipoksantin dibandingkan dengan kadar seluruh ATP dan turunan-turunannya dinyatakan sebagai nilai-K dalam persen. Persentase perubahan ATP semakin besar berarti ikan tersebut semakin menurut kesegarannya.

Prosedur penelitian yang dipakai pada saat itu adalah sebagai berikut. Dua gram daging ikan dihancurkan dalam 20 ml 4% larutan perklorik acid dengan memakai mortar. Ekstraksi ikan yang diperoleh disaring. 10 ml filtratnya diambil untuk dianalisis. Kemudian senyawa-senyawa hipoksantin dan inosin dipisahkan dari nucleotidanya dengan menggunakan sistem gradien elusi asam chlorida (HCL).

Perombakan ATP sampai ke IMP belum menurunkan kualitas daging ikan, sebab IMP justru menimbulkan rasa enak dari daging ikan tersebut. Tetapi setelah melewati tahap IMP dimana berubah menjadi inosin dan hipoksantin, daging ikan mulai hambar dan seterusnya menuju ke arah kerusakan yang lebih berat.

Nilai-K adalah suatu nilai yang digunakan untuk menyatakan tingkat kesegaran ikan dan beberapa hasil perikanan lainnya, dimana nilai ini merupakan perbandingan antara jumlah kadar inosin dan hipoksantin yang terbentuk akibat penguraian ATP oleh enzim-enzim tertentu dengan jumlah kadar ATP itu sendiri dan turunan-turunannya.

Nilai-K adalah indeks kesegaran ikan dan telah dipakai secara efektif dan meluas oleh banyak peneliti baik di negara-negara perikanan lainnya, termasuk oleh peneliti

Indonesia. Metoda pengujian kesegaran dengan memakai pengujian nilai-K adalah metoda sederhana dan cepat bisa memperoleh hasilnya dan dapat dipercaya. Pengujian nilai-K adalah salah satu pengujian kesegaran ikan secara enzimatik.

Saito *et. al.* (1959) mengatakan bahwa pengujian kesegaran dengan memakai nilai-K dapat dijelaskan dengan rumus sebagai berikut:

$$\text{Nilai-K (\%)} = A / B \times 100 \%$$

Dimana B adalah total *absorbance* cahaya pada panjang gelombang 250 nm oleh ekstraksi daging ikan di dalam larutan asam perchlorik (HClO₄). *Absorbance* cahaya dari dalam ekstraksi daging ikan pada panjang gelombang ini sebenarnya dilakukan oleh senyawa-senyawa ATP dan turunan-turunannya sampai hipoksantin. Sedangkan A adalah total *absorbance* cahaya pada panjang gelombang yang sama dalam alat spectrophotometer oleh senyawa-senyawa inosin dan hipoksantin.

Rumus tersebut di atas disederhanakan oleh EHIRA (1976) sebagai berikut:

$$\text{Nilai - K} = \frac{HxR + Hx}{ATP + ADP + AMP + IMP + HxR + Hx} \times 100\%$$

Dimana : ATP = Adenosin trifosfat
 ADP = Adenosin difosfat
 AMP = Adenosin monofosfat
 IMP = Inosin monofosfat
 HxR = Inosin
 Hx = Hipoksantin

Dari rumus di atas jelas terlihat bahwa tujuan menghitung nilai-K tidak perlu memisahkan ATP dari turunannya, tetapi dengan menentukan total inosin dan hipoksantin.

Juga terlihat jelas bahwa ikan yang masih sangat segar nilai-K-nya rendah, sedangkan pada ikan yang tingkat kesegarannya lebih rendah, nilai-K-nya akan lebih tinggi.

Banyak peneliti telah mengadakan pengamatan tentang hubungan antara perombakan ATP pada daging ikan dan kesegarannya yang dinilai secara uji organoleptik dan menyatakan bahwa uji nilai-K merupakan indeks uji yang sangat sesuai untuk pengamatan kesegaran ikan.

2.2. Metoda Penentuan

2.2.1 Penyediaan Bahan Reaksi :

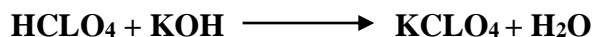
1. Larutan HClO_4 10% dan 5%
2. Larutan KOH 10 M dan 1 M
3. Larutan HClO_4 5%, dinetralkan dengan KOH 10 M dan 1 M
4. Larutan NH_4OH 25%
5. Larutan pengelusi A; 0,02 M HCL (untuk memisahkan HxR dan Hx dari nukleotida dalam resin)
6. Larutan pengelusi B; (0,2 M HCL + 0,6 M NaCL) guna memisahkan ATP + ADP + AMP + IMP dari ekstraksi sampel dalam resin
7. Larutan NaOH 1 M, larutan HCL 1 M
8. Larutan standard; salah satu dari ATP, ADP, AMP, atau IMP dan salah satu dari HxR atau Hx.

2.2.2 Mengaktifkan Resin Penukar Ion

Dalam analisis ini, resin yang dipergunakan adalah resin Dowex 1 x 4, tipe CL^- , dengan ukuran 100 – 200 mesh. Sekitar 50 g resin dicuci dengan aquades. Selanjutnya direndam dalam 500 ml 1 M NaOH selama 30 menit. NaOH dipisahkan, kemudian dicuci dengan aquades sampai netral.

2.2.3 Penyiapan Larutan Ekstraksi HClO₄

Lima (5) gram daging sampel diekstraksi dengan 10 ml HClO₄ 10% dan kemudian disentrifus pada 3000 rpm selama 3 menit. Supernatan disimpan dan residunya dicuci dengan 10 ml HClO₄ 5%. Selanjutnya disentrifus pada 3000 rpm selama 3 menit. Supernatan yang dihasilkan digabungkan dengan supernatan yang disimpan sebelumnya. Supernatan ini kemudian dinetralkan dengan KOH 10 M dan 1 M. Ekstrak yang telah dinetralisasi, disentrifus selama 3 menit pada 3000 rpm. Residunya dicuci dengan 10 ml HClO₄ 5% netral. Digunakan HClO₄ supaya dapat terikat dengan KOH.



Supernatan dari hasil pencucian ini digabungkan dengan supernatan sebelumnya. Selanjutnya larutan ekstraksi tersebut ditambahkan NH₄OH sehingga pH-nya menjadi 9,4, pada pH ini sampel mudah dipisahkan.

2.2.4 Penyiapan Kolom Kromatografi

Pada dasar kolom (0,6 x 30 cm) diletakkan glass wool sebagai saringan. Kolom kemudian diisi dengan resin yang telah aktif setinggi 5 cm diatas saringan. Resin kemudian dicuci dengan aquades (volume resin = 0,6 x 5 ml = 3 ml).

2.2.5 Fraksinasi Nukleotida dan Nukleosida

Dua (2) ml larutan ekstraksi dipipetkan ke dalam kolom. Kemudian dialirkan 50 ml larutan A (0,02 M HCL) ke dalam resin. Larutan pengelusi ini kemudian ditampung. Yang terelusi adalah inosin dan hipoksantin. Absorbansinya dibaca dengan spektrofotometer dengan panjang gelombang 250 nm.

Kemudian 50 ml larutan B (0,2 M HCL + 0,6 M NaCL) dialirkan ke dalam kolom. Larutan pengelusi ini lalu ditampung. Yang terelusi adalah ATP + ADP + AMP + IMP. Absorbansinya dibaca pada spektrofotometer dengan panjang gelombang 250 nm.

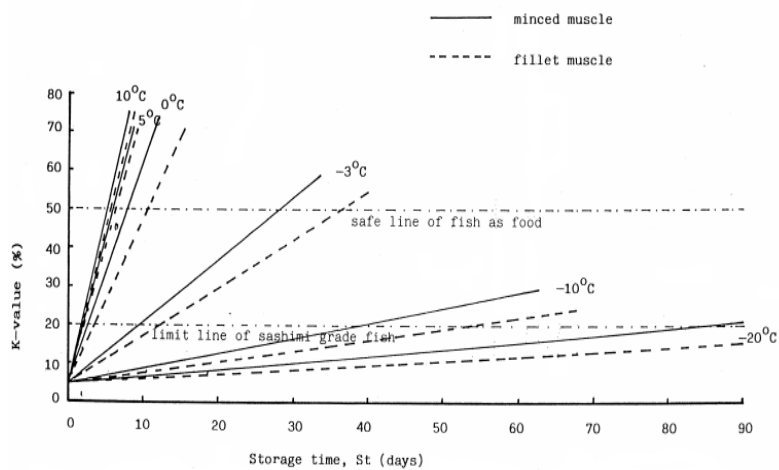
Hasil pembacaan absorbansinya tersebut kemudian dimasukkan ke dalam rumus nilai-K.

2.3. Hasil-Hasil Penelitian

2.3.1 Hasil Analisis Nilai-K Ikan Kembung Yang Dicincang dan Dihillet serta Disimpan Pada Beberapa Suhu Penyimpanan (Suwetja, 1986)

Penurunan tingkat kesegaran ikan kembung yang dagingnya dicincang halus (*minced*) lebih cepat daripada daging yang hanyadisayat (*filleted*), seperti pada gambar 2.1

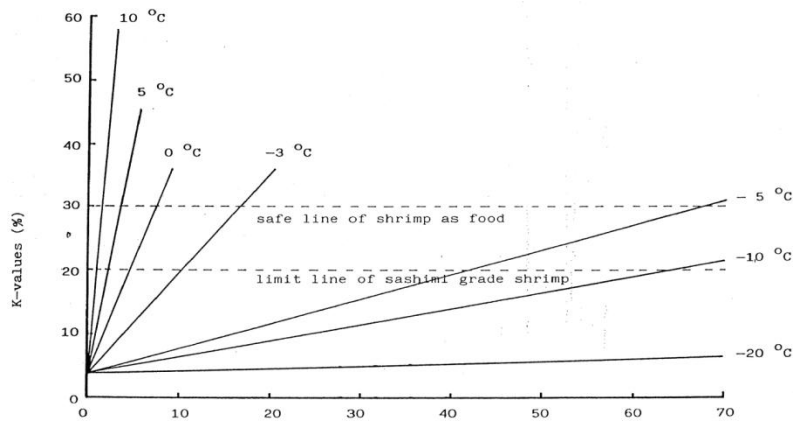
dimana pada suhu yang sama kedua jenis daging ini memberikan hasil yang sangat berbeda.



Gambar 2.1 Periode memperthankan tingkat kesegaran dan jangka waktu penyimpanan yang baik daging ikan kembung selama penyimpanan pada beberapa tingkatan suhu rendah.

2.3.2 Hasil Analisis Nilai-K Udang Barong yang Disimpan pada Beberapa Suhu Rendah

Penurunan tingkat kesegaran daging udang barong (*Penneus momodon*) yang disimpan pada berbagai suhu rendah (+10°C sampai -20°C) memberikan daya simpan yang berbeda-beda seperti terlihat pada gambar 2.2.



Gambar 2.2. Periode mempertahankan tingkat kesegaran dan jangka waktu penyimpanan yang baik daging udang selama penyimpanan pada beberapa tingkatan suhu rendah.

2.3.3 Hasil Analisis Nilai-K Ikan Tuna Madidihang dan Ikan Cakalang Selama 14 Hari Pengesan (Suwetja, 2006)

Hasil penelitian tentang nilai-K ikan tuna Madidihang (*Thunnus albacores*) yang disimpan di dalam es selama 14 hari dapat dilihat pada Tabel 2.1 dan nilai-K ikan Cakalang (*Katsuwonus pelamis*) yang disimpan di dalam es selama 14 hari dapat dilihat pada Tabel 2.2.

Tabel 2.1. Nilai-K Ikan Tuna Madidihang yang Disimpan di Dalam Es Selama 14 Hari

Lama Penyimpanan (hari)	Nilai – K			
	Ulangan			Rata - rata
	1	2	3	
0	16.58	15.58	15.20	15.92
2	24.12	25.35	22.82	24.10
4	34.54	35.37	32.14	34.02
6	43.05	46.9	44.60	44.85
8	47.43	49.43	48.10	48.32
10	53.32	55.91	52.50	53.91
12	67.50	70.85	68.20	68.85
14	78.33	81.90	79.51	79.91

Tabel 2.2. Nilai-K ikan Cakalang yang Disimpan di Dalam Es Selama 14 Hari

Lama Penyimpanan (hari)	Nilai – K			
	Ulangan			Rata - rata
	1	2	3	
0	10.51	14.46	12.40	12.46
2	16.52	21.57	20.61	19.57
4	27.50	31.46	29.42	29.46
6	38.02	41.83	39.63	39.83
8	44.14	48.18	46.21	46.18
10	49.33	53.38	51.42	51.38
12	63.16	67.20	65.24	65.20
14	72.52	76.27	74.01	74.27

2.3.4 Hasil Analisis Nilai-K Ikan Tuna Dibungkus Karung Basah (Suwetja, 2013)

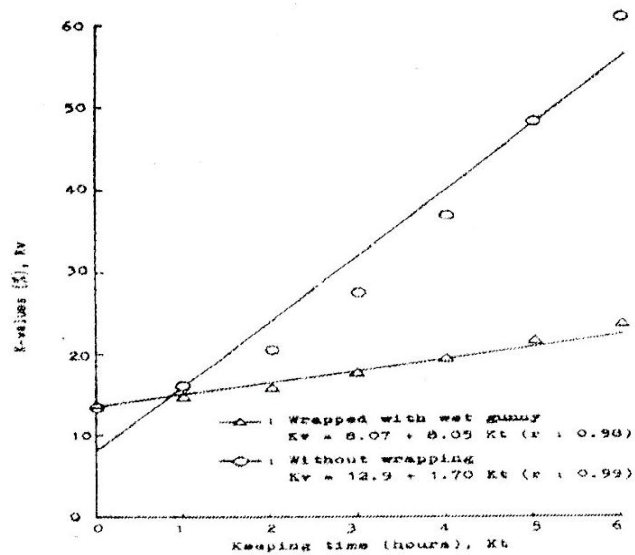
Data hasil pengamatan nilai-K ikan Tuna yang diberi perlakuan selama 6 jam tertera pada Gambar 8. Pada gambar terbaca bahwa nilai-K awal yang dibungkus dengan karung

goni basah adalah sebesar 13,70% dan setelah perlakuan 6 jam dan dibungkus, naik menjadi 23,78%. Sedangkan data awal yang tanpa dibungkus sebelum perlakuan adalah 13,41% naik menjadi 61,39% setelah 6 jam perlakuan.

Menurut hasil penelitian penulis sebelumnya (Nishimoto *et. al.*, 1985) menyatakan bahwa batas penolakan ikan segar secara enzimatis untuk bahan mentah olahan yang didasarkan pada pengujian nilai-K adalah sebesar 50%. Ini berarti bahwa untuk perlakuan tanpa dibungkus selama 6 jam, ikan tuna yang diuji sudah ditolak sebagai bahan mentah olahan, sebab nilai-K-nya sudah melewati 50%. Sedangkan, untuk perlakuan yang dibungkus dengan karung basah masih dapat diterima sampai pada perlakuan 6 jam, bahkan sampai pada perlakuan 4 jam masih dapat diterima sebagai konsumsi sashimi. Uchiyama *et. al.* (1970) dan Ehira *et. al.* (1972) menyatakan bahwa nilai-K rata-rata untuk konsumsi sashimi adalah sebesar 20%.

Gambar 2.3 menunjukka adanya peningkatan nilai-K dengan semakin lamanya perlakuan. Pada gambar 8 terlihat bahwa laju peningkatan nilai-K ikan Tuna setiap selang waktu tertentu pada perlakuan tanpa dibungkus, dimana $b = 8,05$, lebih cepat dibandingkan dengan perlakuan yang

dibungkus dengan karung goni basah, dimana $b = 1,70$. Dengan melihat nilai b yang didapat dari persamaan regresi tersebut ternyata kecepatan peningkatan nilai-K ikan Tuna yang diberi perlakuan selama 6 jam pada perlakuan tanpa dibungkus mengalami peningkatan sebesar 4,7 kali dibandingkan pada perlakuan dibungkus dengan karung goni basah.



Gambar 2.3. Perubahan Nilai-K Daging Ikan Tuna Selama Penanganan Dengan dan Tanpa Karung Goni Basah

Adanya perbedaan laju kenaikan nilai-K ini terutama dipengaruhi oleh perbedaan suhu. Adanya penyiraman air laut pada perlakuan dibungkus dengan karung goni basah memberikan efek pendinginan pada tubuh ikan. Makin rendah suhu yang dicapai maka proses penurunan mutu ikan makin berjalan lambat. Banyak faktor yang menentukan kecepatan penurunan kesegaran ikan dimana suhu penyimpanan memainkan peranan penting setelah ikan mati. Penggunaan suhu rendah setelah ikan mati dapat memperpanjang masa kejang daging ikan, menekan kecepatan penguraian daging ikan secara enzimatik, bakteriologis dan kimiawi (Suwetja *et. al.*, 1990).

2.3.5 Hasil Analisis Nilai-K Ikan Tuna Diawetkan Dengan Jelly-Ice (Suwetja, 2013)

Data hasil pengamatan nilai-K ikan tuna yang diawetkan dengan es-air tawar, dan dengan jelly-es dapat dilihat pada gambar 10. Pada gambar terbaca bahwa nilai-K rerata untuk perlakuan penyimpanan di dalam es-air tawar pada jam ke 0 adalah sebesar 10,61%, naik menjadi rata-rata 44,16% pada jam ke 96. Sedangkan untuk perlakuan penyimpanan pada jelly-es rata-rata nilai-K pada jam ke 0 sebesar 10,98%, naik menjadi 29,36% pada jam ke 96.

Gambar 10 memperlihatkan adanya peningkatan nilai-K dengan semakin lamanya penyimpanan. Pada gambar 10 terbaca bahwa laju peningkatan nilai-K ikan Tuna setiap selang waktu 12 jam pada perlakuan pengawet jelly-es, dengan nilai $b = 0,20$, adalah lebih lambat dibandingkan dengan perlakuan pengawet es-air tawar nilai-K ikan Tuna mengalami peningkatan sebesar 1,75 kali dibandingkan dengan perlakuan pemberian pengawet jelly-es.

Gambar 10 juga menunjukkan bahwa daging Tuna masih dapat diterima sebagai bahan konsumsi sashimi (Nilai-K = 20%) sampai pada 27 jam pada perlakuan penyimpanan dalam es-air tawar dan sampai 48 jam pada penyimpanan dalam jelly-es. Lebih lanjut dapat diketahui bahwa sampai penyimpanan 96 jam daging tuna dengan kedua jenis perlakuan tersebut masih dapat diterima sebagai bahan mentah olahan.

Nishimoto *et. al.* (1985) yang melakukan penelitian terhadap ikan mackerel yang diawetkan di dalam refrigerator pada suhu 0°C mendapatkan bahwa nilai-K 20% dicapai setelah 48 jam penyimpanan dan nilai-K 50% pada 192 jam penyimpanan.

BAB 3

METODE PENENTUAN NILAI TVB-N

3.1. Prinsip Penentuan

Ikan mati setelah hampir melewati fase rigormortis, akan memasuki fase autolisis dimana proses kerja enzim pada tubuh ikan lebih aktif dalam merombak senyawa-senyawa yang kompleks menjadi senyawa-senyawa yang lebih sederhana. Pada waktu ikan hidup banyak terdapat bakteri-bakteri pembusuk pada insang dan isi perutnya. Menjelang akhir fase autolisis ini bakteri pemusuk itupun sudah mulai bekerja memanfaatkan senyawa-senyawa yang sudah sederhana tersebut untuk tumbuh dan berkembangbiak. Kerja dari bakteri-bakteri ini menghasilkan senyawa-senyawa sisa antara lain ammonia (NH_3), trimethylamina (TMA) dan senyawa-senyawa turunannya.

NH_3 , TMA, DMA dan MMA termasuk ke dalam golongan basa-basa yang menguap. NH_3 adalah hasil perombakan protein atau asam-asam amino. TMA dan turunannya adalah hasil perombakan dari trimethylamin oksida (TMAO). Senyawa-senyawa inilah yang memberi kesan daging ikan itu mudah busuk. Oleh karena itu kadar dari senyawa-senyawa ini dapat dipakai sebagai indeks

kemunduran mutu ikan. Banyak penulis melaporkan bahwa kadar dari senyawa-senyawa ini disebutkan sebagai indeks kebusukan ikan, sedang penulis lainnya menyatakan sebagai indeks kesegaran. Indeks kesegaran ikan ini disebutkan dengan istilah “Kesegaran Bakterial”. Diberikan istilah kesegaran bakterial dan bukan pembusukan sebab pada suatu tingkat tertentu dimana nilai kesegaran dikatakan hilang, produk ini masih dapat dimakan, sedangkan pembusukan mempunyai pengertian bahwa produk tidak lama lagi dapat dimakan setelah dinyatakan bahwa produk itu sudah mulai membusuk. Keseluruhan golongan basa-basa menguap ini mengandung unsur nitrogen. Dengan demikian senyawa-senyawa tersebut dapat diberi istilah sebagai *total volatile bases nitrogen* (TVB-N). Kadar senyawa ini dapat ditentukan secara laboratoris yang disebut dengan “Penentuan Kadar TVB-N”, penentuan kadar TVB-N adalah merupakan metode uji kesegaran bakteriologis atau metoda pengukuran hasil aksi bakterial.

Metode ini hanya dapat diterapkan dalam menera tahap pembusukan pada waktu jumlah bakteri mulai meningkat tajam. Makin banyak bakteri yang bekerja makin busuk ikan

itu pada awal pembusukan jumlah bakteri dalam daging ikan sekitar 10^5 sel/g.

Dengan demikian metoda ini tidak sensitif untuk menera kemunduran ikan pada tingkat awal. Namun metoda ini masih sangat luas digunakan karena mempunyai beberapa keuntungan antara lain: 1) Peralatan, bahan dan prosedurnya, sederhana 2) murah dan 3) cepat pelaksanaannya.

Kebutuhan akan pengujian kadar TVB-N akhir-akhir ini semakin meningkat sejalan dengan peningkatan hasil-hasil ekspor perikanan. Cobb dan Vanderzant (1975) dan Chang *et. al.* (1983) memberikan batas nilai kesegaran bakterial dengan uji kadar TVB-N sebesar 30 mg N/100 g daging pada hasil-hasil perikanan (ikan dan *shellfish*). Sedangkan Suwetja (1986) menemukan nilai batas ini lebih kecil yaitu 20 mg N/100 g daging pada salah satu jenis udang, *Penaeus japonicus*. Fatimah dan Qadri (1985) mengemukakan nilai batas 22,5 mg N/100 g daging pada lobster, *Panulirus Polyphagus*.

3.2. Metode Penentuan

Menurut Suwetja (1993), analisa TVB-N adalah sebagai berikut:

1. Daging ikan ditimbang sebanyak 5 g dengan menggunakan timbangan. Dihaluskan menggunakan mortar kemudian dihomogenkan dengan 10 ml larutan TCA 7,5% di dalam mortar sampai sampel homogen. Kemudian sampel dipindahkan ke gelas beaker terus didiamkan selama 30 menit.
2. Selama menunggu proses tersebut, permukaan badan cawan conway beserta tutupnya diolesi vaselin secara merata untuk mencegah keluarnya basa-basa menguap dari dalam cawan tersebut.
3. Sampel yang didiamkan tadi disaring dengan kertas *whatman* (no. 2-3) untuk mendapatkan ekstrak daging.
4. Selanjutnya 1 ml larutan Asam Borat (H_3BO_2) dan 2 tetes larutan indikator dipipetkan ke dalam cawan bagian dalam (*inner chamber*).
5. Dipipet 1 ml ekstrak daging ke dalam cawan bagian luar (*outer chamber*), kemudian cawan ditutup dengan sedikit terbuka.

6. Selanjutnya dipipetkan 1 ml larutan Potassium Karbonat Jenuh (K_2CO_3) ke dalam cawan bagian luar disisi yang berseberangan dengan ekstrak daging kemudian ditutup rapat.
7. Kemudian diputar-putar beberapa kali supaya larutan ekstraksi daging ikan dan larutan Potassium Karbonat (K_2CO_3) dapat tercampur.
8. Bersamaan dengan pekerjaan di atas, dibuat blanko, dimana sebagai pengganti larutan ekstraksi daging ikan dipakai 1 ml larutan TCA 7,5%.
9. Kemudian disimpan dalam inkubator dengan suhu $37^\circ C$ selama 80 menit atau didalam suhu kamar selama 24 jam. Pada saat tersebut terjadi penguraian ekstrak daging yang melepaskan basa-basa menguap oleh Potassium Karbonat. Basa-basa tersebut kemudian diserap oleh Asam Borat.
10. Pada waktu reaksi itu terjadi, pH larutan akan meningkat dan berubah menjadi basa dan ditandai oleh warna hijau.
11. Asam Borat yang mengandung basa-basa menguap segera dititrasi dengan larutan Asam Klorida encer (0,02 N HCL).

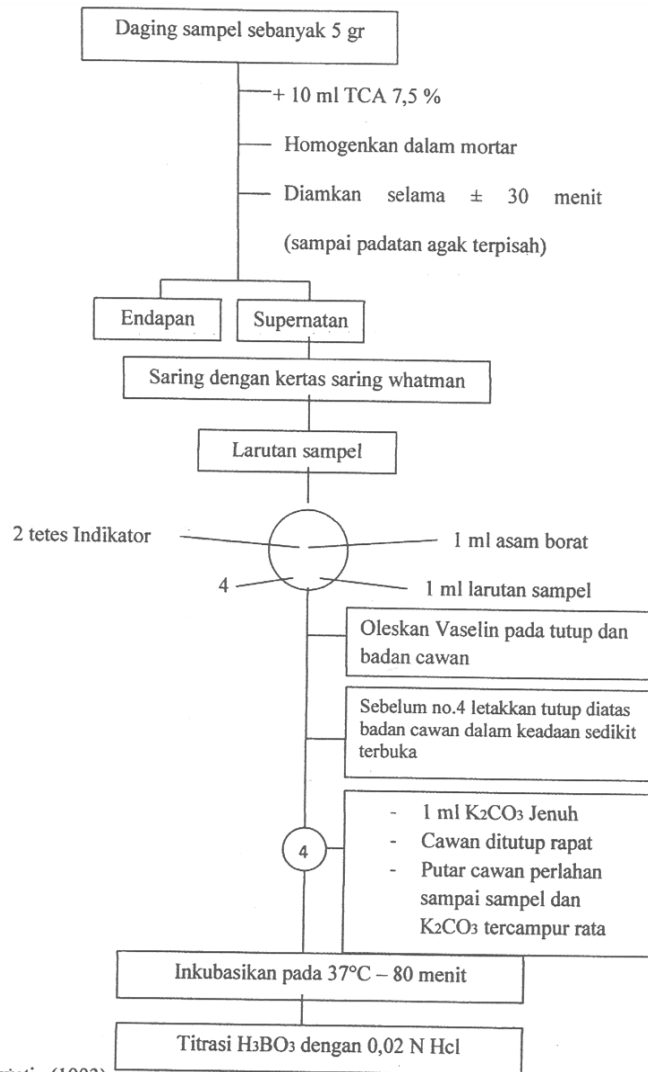
12. Titik akhir titrasi adalah pada waktu Asam Borat kembali warna merah muda atau ketinggian pH awal dari larutan. Hal ini berarti titrasi hanya ditunjukkan untuk pengambilan basa-basa menguap yang terikat pada Asam Borat.

Kadar TVB-N dalam 100 g daging ikan dapat ditentukan dengan rumus berikut:

$$\text{TVB-N (mg N/100 gr daging)} = (a-b) \times 0,28 \times \text{faktor pengencer}$$

Dimana : a = jumlah ml asam klorida yang dipakai mentiler larutan sampel
b = jumlah ml asam klorida yang dipakai mentiler blanko
0,28 = jumlah ammonium nitrogen yang setara dengan 1 ml 0,02 N larutan asam klorida.

Diagram alir analisa TVB-N dapat dilihat pada gambar berikut.



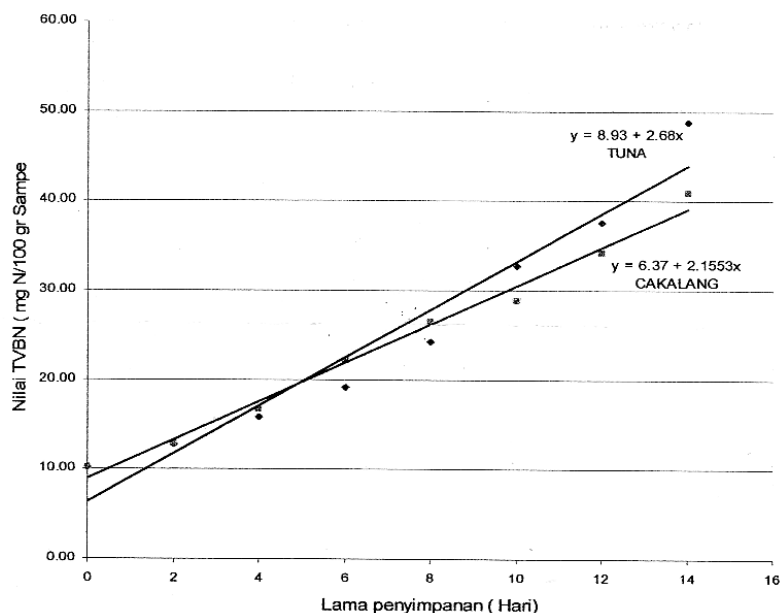
Sumber : Suwetja (1993).

Gambar 3.1. Diagram Alir Analisa TVB-N (*Total Volatile Base Nitrogen*)

3.3. Hasil-Hasil Penelitian

3.3.1 Hasil Analisis Nilai TVB-N Ikan Tuna Madidihang dan Ikan Cakalang Selama 14 Hari Pengesan (Suwetja, 2013)

Data nilai TVB-N ikan Tuna Madidihang dan ikan Cakalang sampel dapat dilihat pada Tabel 3.1 dan 3.2 serta hasil analisis regresinya dapat dilihat pada Gambar 3.2.



Gambar 3.2. Nilai TVB-N Ikan Tuna Madidihang dan Cakalang

Pada persamaan regresi untuk data nilai TVB-N ikan Tuna Madidihang terlihat nilai-b-nya atau slope atau kemiringan grafiknya sebesar 2,68 lebih besar daripada

nilai-Mb pada persamaan regresi untuk data nilai TVB-N ikan Cakalang yaitu sebesar 2,16. Hal ini menunjukkan bahwa daging ikan tuna Madidihang sampel, seperti juga ditunjukkan oleh data nilai-Mb dan nilai-K, lebih cepat terdegradasi daripada daging ikan Cakalang.

Tabel 3.1 dan 3.2 menunjukkan bahwa rata-rata nilai TVB-N: 32,68 mg N/100 g sampel tuna terdeteksi pada hari penyimpanan ke 10 dan rerata nilai TVB-N: 28,83 mg N/100 g sampel Cakalang terdeteksi pada hari penyimpanan ke 10 yaitu nilai-nilai yang mendekati nilai 30 mg N/100 g sampel.

Tabel 3.1. Nilai TVB-N Ikan Tuna Madidihang yang Disimpan di Dalam Es Selama 14 Hari

Lama penyimpanan (HARI)	Nilai TVB-N (mg N/100 g sampel)			
	Ulangan			Rerata
	1	2	3	
0	8.21	12.12	10.03	10.12
2	11.15	14.78	12.41	12.78
4	14.26	17.80	15.34	15.80
6	17.06	21.19	19.32	19.18
8	23.11	26.16	23.20	24.16
10	32.15	34.68	31.21	32.68
12	36.04	39.59	37.13	37.59
14	47.23	50.83	50.83	48.42

Tabel 3.2. Nilai TVB-N Ikan Tuna Madidihang yang Disimpan di Dalam Es Selama 14 Hari

Lama Penyimpanan (hari)	Nilai TVB-N (mg N/100 g sampel)			
	Ulangan			Rerata
	1	2	3	
0	8.33	12.14	9.94	10.14
2	11.45	14.90	12.35	12.90
4	15.66	18.71	15.75	16.71
6	21.56	24.09	20.62	22.09
8	26.31	29.48	23.64	26.48
10	28.25	30.83	27.41	28.83
12	33.09	36.16	34.23	34.49
14	38.26	42.86	41.45	40.86

Hasil penelitian Nishirrsoto *et. al.* (1985), mengatakan bahwa nilai TVB-N ikan Mackerel 30 mg N/100 g sampel yang disimpan pada suhu 10, 5, 0, -3 dan -10°C terbentuk pada lama penyimpanan masing-masing 3, 5, 17, 62 dan 165 hari.

3.3.2 Hasil Analisis Nilai TVB-N Ikan Layang (Seke, D., IK. Suwetja dan H. Onibala, 2005)

Di dalam es air kelapa. Data nilai rata-rata TVB-N dari 4 perlakuan konsentrasi es air kelapa dapat dilihat pada Tabel 3.3 berikut ini.

Tabel 3.3. Data Nilai Rata-Rata TVB-N dalam mg N/100 g Daging Ikan Layang Dari 4 Perlakuan Konsentrasi Es Air Kelapa

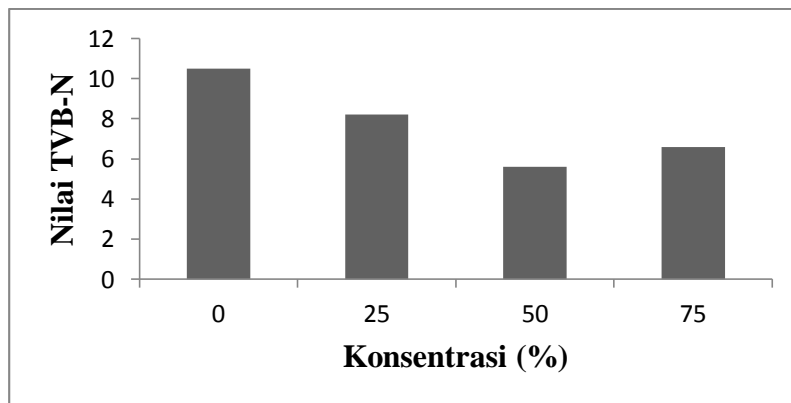
Konsentrasi (%)	Nilai Rata-rata (TVB-N)
0	10,5
25	8,2
50	5,6
75	6,6

Dari Tabel 3.3 di atas dapat dilihat nilai rata-rata TVB-N daging tertinggi sebesar 10,6 mg N/100 g daging yaitu pada konsentrasi es air kelapa 0% sedangkan nilai rata-rata TVB-N daging terendah yaitu 5,6 mg N/100 g daging pada konsentrasi es air kelapa 50%. Data nilai rata-rata TVB-N dalam mg N/100 g daging dari 4 periode lama penyimpanan dapat dilihat pada Tabel 3.4 berikut ini.

Tabel 3.4. Data Nilai Rata-rata TVB-N dalam mg N/100 g daging dari 4 Periode lama penyimpanan

Lama Penyimpanan (Hari)	Nilai Rata-rata (TVB-N)
0	1,9
6	4,3
12	9,6
18	14,2

Dari Tabel 3.4, menunjukkan bahwa nilai rata-rata TVB-N daging yang tertinggi pada lama penyimpanan 18 hari sebesar 14,2 mg N/100 g daging, sedangkan nilai rata-rata TVB-N daging terendah yaitu pada lama penyimpanan 0 hari sebesar 1,9 mg N/100 g daging. Adapun grafik hubungan antara konsentrasi es air kelapa dengan nilai rata-rata TVB-N daging dapat dilihat pada Gambar 3.3 berikut ini. Dari grafik yang ada, dapat dilihat bahwa konsentrasi es air kelapa yang mempunyai nilai rata-rata terendah adalah 50% dengan nilai TVB-N sebesar 6 mg/N 100 g daging. Konsentrasi 50% efektif menahan laju pembentukan TVB-N, disarankan dengan perbandingan air tawar dengan air kelapa dengan ratio 50 : 50 adalah baik.



Gambar 3.3. Grafik Hubungan Antara Nilai TVB-N dengan Konsentrasi Es Air Kelapa. Nilai adalah rata-rata dari 4 periode lama penyimpanan.

Dari Gambar 3.3 menunjukkan bahwa pada konsentrasi 50% baik pada lama penyimpanan mulai dari 0, 6, 12 maupun 18 hari nilai TVB-N dalam daging menurun. Hal ini diduga bahwa konsentrasi es air kelapa menekan nilai TVB-N. Pada uji lanjut Duncan TVB-N menunjukkan bahwa setiap konsentrasi es air kelapa adalah signifikan terhadap nilai TVB-N. Untuk konsentrasi es air kelapa 50% berbeda nyata dengan konsentrasi es air kelapa 25%, berbeda nyata dengan konsentrasi es air kelapa 75%, berbeda nyata dengan konsentrasi es air kelapa 0%. Demikian juga untuk konsentrasi es air kelapa 25% berbeda nyata dengan konsentrasi es air kelapa 50%, berbeda nyata dengan konsentrasi es air kelapa 75%, berbeda nyata dengan konsentrasi es air kelapa 0%. Selanjutnya untuk konsentrasi es air kelapa 75% berbeda nyata dengan konsentrasi es air kelapa 25%, berbeda nyata dengan konsentrasi es air kelapa 50%, berbeda nyata dengan konsentrasi es air kelapa 0%. Sedangkan untuk konsentrasi es air kelapa 0% berbeda nyata dengan konsentrasi es air kelapa 25%, berbeda nyata dengan konsentrasi es air kelapa 50%, berbeda nyata dengan konsentrasi es air kelapa 75%.

Dari data tersebut dapat dilihat bahwa konsentrasi 50% sampai pada hari yang ke 18 mempunyai nilai TVB-N dalam daging sebesar 7,47 mg N/100 g daging, dengan demikian penambahan es air kelapa dapat diperpanjang masa simpan dan masih dapat diterima oleh konsumen. Dengan es air kelapa diduga ada protein yang tidak larut dalam air tetapi larut dalam air kelapa. Hal tersebut mengakibatkan terlarutnya zat-zat disaat pelelehan es berlangsung.

Nilai batas kesegaran bakterial daging ikan dengan uji mutu TVB-N sebesar 30 mg N/100 g daging pada hasil-hasil perikanan (Cobb dan Vandersant, 1975 *dalam* Suwetja 1993). Dapat disimpulkan bahwa uji mutu dengan uji TVB-N dalam ikan Layang dengan perlakuan menggunakan es air kelapa masih dapat diterima oleh konsumen.

3.3.3 Hasil Analisis Nilai TVB-N 3 Jenis Ikan Pelagis Sesaat Setelah Dimatikan dan Sesaat Setelah Full Rigor (Daloma, M. J dan IK. Suwetja, 2010)

Nilai TVB (*Total Volatile Base*) beberapa jenis ikan pelagis sesaat setelah dimatikan (mg N/100 g daging sampel) dapat dilihat pada Tabel 3.5 dan 3.6.

Tabel 3.5. Nilai TVB (*Total Volatile Base*) Pada Beberapa Jenis Ikan Sampel Sesaat Setelah Dimatikan

Jenis ikan	Ulangan		Jumlah	Rata-rata
	1	2		
Ikan Sardin	15,96	17,64	33,6	16,8
Ikan Julung-julung	17,64	15,12	32,76	16,38
Ikan Cendro	16,8	15,96	32,76	6,38

Tabel 3.6. Nilai TVB (*Total Volatile Base*) Pada Beberapa Jenis Ikan Sampel Sesaat Setelah Full Rigor

Jenis ikan	Ulangan		Jumlah	Rata-rata
	1	2		
Ikan Sardin	20,16	21,84	42	21
Ikan Julung - julung	18,48	20,16	38,64	19,32
Ikan Cendro	16,8	20,16	38,96	18,48

Nilai TVB rata-rata ikan sesaat setelah dimatikan, untuk ikan sardin 16,8, ikan julung-julung 16,38, sedangkan untuk ikan Cendro 16, 38. Nilai TVB rata-rata ikan sesaat setelah *full rigor*, untuk ikan Sardin 21, ikan Julung-julung 19,32, sedangkan untuk ikan cendro 18,48. Nilai TVB terendah pada ikan sesaat setelah *full rigor* adalah pada jenis ikan Cendro dan yang tertinggi adalah ikan Sardin.

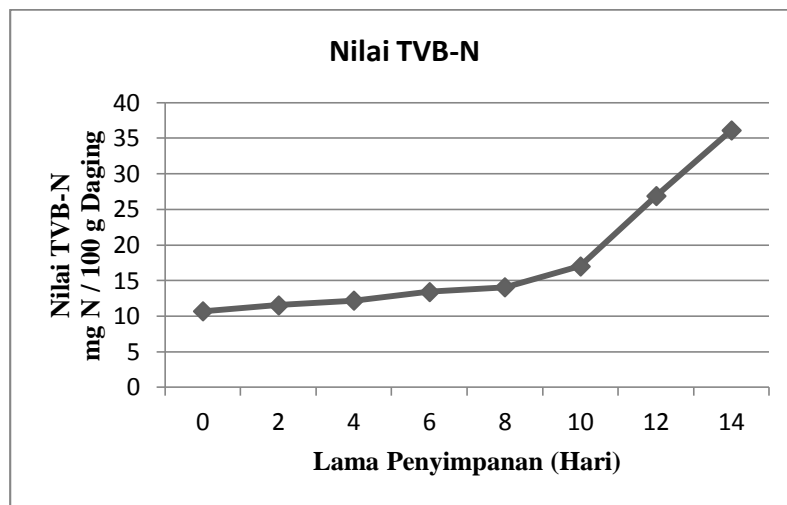
Di dalam penelitian ini, nilai TVB pada sesaat setelah *full rigor* dari ketiga jenis sampel berkisar antara 18,48 – 21, meningkat jika dibandingkan dengan nilai TVB sesaat setelah dimatikan yaitu berkisar 16,8 – 16,38 (Tabel 3.5 dan

3.6). Sinorski (1991), menyatakan bahwa peningkatan nilai TVB diakibatkan oleh aktivitas bakteri yang menghasilkan basa-basa menguap. Tetapi dalam penelitian ini peningkatan nilai TVB kecil, karena diakibatkan adanya penguraian AMP oleh enzim deaminase dalam daging ikan menjadi IMP dan membebaskan NH_3 .

Sedangkan batas kelayakan nilai TVB untuk daging ikan segar yang layak dikonsumsi adalah 30 mg N/100 g daging. Hal itu berarti bahwa nilai TVB pada penelitian ini masih dibawah nilai batas kelayakan atau dianggap masih layak dikonsumsi. Keseluruhan nilai TVB baik sesaat setelah dimatikan dan sesaat *full rigor*, untuk ikan Sardin 16,8 – 21 mg N/100 g, ikan Julung-julung 16,38 – 19,32 mg N/100 g, sedangkan ikan Cendro 16,38 – 18,38 mg N/100 g. Nilai TVB yang terendah adalah ikan Cendro, sedangkan nilai yang paling tinggi adalah ikan Sardin.

3.3.4 Hasil Analisis Nilai TVB-N Ikan Rahiang Jenis Eksport Selama Pengesan (Warsito, T., IK. Suwetja, dan A. Watung, 2012)

Nilai rata-rata TVB-N daging ikan “*Rahiang*” segar selama pengesan, dapat dilihat pada Gambar 3.4.



Gambar 3.4. Hubungan Nilai TVB-N Ikan “*Rahiang*” Dengan Lama Penyimpanan

Keterangan Gambar :

- Lama penyimpanan berdasarkan setelah 7-10 hari dari daerah penangkapan.
- Data merupakan rata-rata dari 4 kali ulangan.

Nilai rata – rata TVB-N ikan “*Rahiang*” yang terendah adalah 10,71 mg N/100 g daging ikan pada penyimpanan hari ke-0 sedangkan nilai rata-rata TVB-N yang tertinggi adalah

36,12 mg N/100 g daging ikan yang terdapat pada penyimpanan hari ke-14. Gambar 3.4 di atas menunjukkan bahwa secara keseluruhan terjadi peningkatan nilai TVB-N.

Selama penelitian, peningkatan nilai TVB-N berjalan lambat karena suhu penyimpanan dipertahankan rendah (2°C), namun demikian nilai TVB-N tetap meningkat dari hari ke hari.

3.3.5 Hasil Analisis Nilai TVB-N Ikan Layang Yang Disimpan Pada Es Rumput Laut Dengan Konsentrasi Yang Berbeda (Serpara, S., IK. Suwetja, S. Berhimpon dan R. Montolalu, 2013)

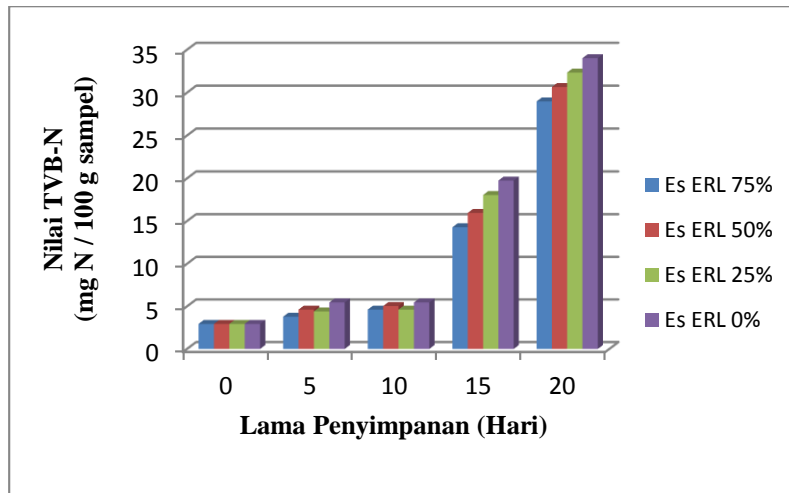
Berdasarkan hasil pengujian kadar TVB-N pada ikan Layang (*Decapterus* sp) selama penyimpanan dingin sebagaimana disajikan pada Gambar 3.5, menunjukkan bahwa kadar TVB dari ikan Layang (*Decapterus* sp) dengan perlakuan konsentrasi Es Ekstrak Rumput Laut 50%, 25%, 0%, dimana kadar TVB semakin meningkat dengan semakin lamanya penyimpanan.

Jumlah nilai TVB-N tertinggi pada hari ke-20 pada perlakuan es ekstrak rumput laut 0% adalah 34,02 mg N/100 g daging ikan, sedangkan untuk jumlah nilai TVB-N terendah pada 0 hari sebelum mengalami perlakuan adalah 2,94 mg N/100 g daging ikan.

Gambar tersebut memperlihatkan bahwa selama waktu penyimpanan terjadi peningkatan nilai TVB-N ikan Layang dengan perlakuan es ekstrak rumput laut 75%, 50%, 25%, dan 0%.

Dimana pada hari ke 0 nilai TVB-N untuk semua perlakuan yaitu 2,94 mg N/100 g daging ikan. Setelah memasuki hari ke 5, Nilai TVB-N untuk perlakuan es ekstrak rumput laut 75% naik menjadi 3,78 mg N/100 g, hari ke 10 menjadi 4,62 mg N/100 g, hari ke 15 menjadi 14,28 mg N/100 g dan hari ke 20 menjadi 28,98 mg N/100 g. Nilai TVB-N yang diberi perlakuan es ekstrak rumput laut 50% pada hari ke 5 naik menjadi 4,62 mg N/100 g, hari ke 10 menjadi 5,04 mg N / 100 g, hari ke 15 menjadi 15,96 mg N/100 g dan hari ke 20 menjadi 30,66 mg N/100 g. Nilai TVB-N yang diberi perlakuan es ekstrak rumput laut 25% pada hari ke 5 naik menjadi 4,4 mg N/100 g, hari ke 10 menjadi 4,62 mg N/100g, hari ke 15 menjadi 18,06 mg N/100g dan hari ke 20 menjadi 32, 34 mg N/100 g. Untuk nilai TVB-N yang diberi perlakuan es ekstrak rumput laut 0% pada hari ke 5 naik menjadi 5,46 mg N/100 g, hari ke 10 menjadi 5,46 mg N/100 g, hari ke 15 menjadi 19,74 mg

N/100 g dan hari ke 20 menjadi 34,02 mg N/100 g. Lebih jelasnya dapat dilihat pada Gambar 3.5.



Gambar 3.5. Histogram Nilai TVB-N Terhadap Lama Penyimpanan

Hasil pengujian kadar TVB-N diketahui bahwa perlakuan es ekstrak rumput laut dengan konsentrasi 75%, 50%, 25% dan 0% seperti tertera pada Gambar 3.5 menunjukkan bahwa perlakuan es ekstrak rumput laut 75% pada penyimpanan hari ke-20 terjadi peningkatan kadar TVB-N yang lebih rendah dibandingkan dengan perlakuan lainnya. Hal ini berarti semakin tinggi konsentrasi ekstrak rumput laut yang diberikan lebih baik dibandingkan perlakuan lainnya dalam mencegah terjadinya pembentukan

nilai TVB-N pada daging ikan layang selama penyimpanan. Menurut Hadiwiyoto (1993) bahwa penguraian protein pada umumnya akan membentuk senyawa-senyawa seperti dimetilamin, trimetilamin atau ammonia. Karena itu apabila kesegaran ikan menurun, maka kandungan nitrogen yang mudah menguap akan meningkat.

Pada Gambar 3.5, terlihat juga bahwa rata-rata kadar TVB-N ikan Layang selama penyimpanan untuk semua perlakuan sampai hari ke-20 untuk perlakuan konsentrasi 75% belum melebihi nilai standar maksimal ikan segar yaitu di bawah 30 mg N/100 g. Untuk perlakuan konsentrasi 50%, 25% dan 0% memiliki nilai rata-rata kadar TVB sudah melebihi nilai standar maksimal ikan segar yaitu di atas 30 mg N/100 g, hal ini sejalan dengan pernyataan Suwetja (2013) bahwa nilai batas kesegaran bakterial dengan uji TVB-N menurut Farber (1965) sebagai berikut: Ikan sangat segar (TVB-N < 10 Mg N/100 g), ikan segar ($10 \leq \text{TVB-N} \leq 20$ mg N/100 g), ikan masih layak konsumsi ($20 \leq \text{TVB-N} \leq 30$ mg N/100 g) dan ikan tidak layak konsumsi (> 30 mg N/100 g). Untuk hasil analisis sidik ragam terhadap kadar TVB-N ikan Layang (*Decapterus* sp) berdasarkan perlakuan yang diterapkan disajikan pada Tabel 3.7.

Tabel 3.7. Hasil Analisis Sidik Ragam Nilai TVB-N Ikan Layang

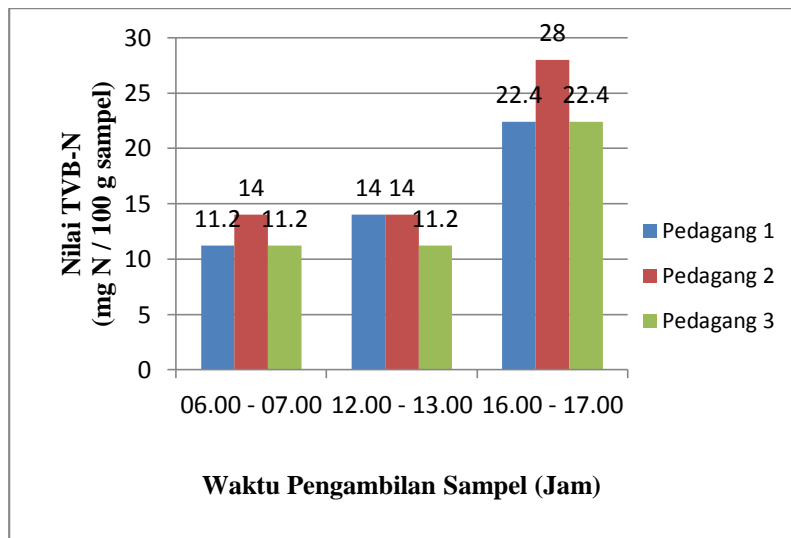
Sumber Keragaman	JK	Db	KT	F _{Hit}	F _{Tabel}	
					0,05	0,01
Konsentrasi Rumput Laut (A)	35,93	3	11,98	28,00**	3,10	4,94
Lama Penyimpanan	4739,27	4	1184,82	2769,75**	2,67	4,43
Interaksi AB	30,38	12	2,53	5,92**	2,28	3,32
Galat	8,56	20	0,43			
Total	4814,13	39				

Ket. : ** Sangat nyata, * nyata dan ^{tn} tidak nyata

Hasil analisis sidik ragam terhadap nilai TVB-N disajikan pada Tabel 3.7 menunjukkan bahwa perlakuan persentase es ekstrak rumput laut dan lama penyimpanan serta interaksi antara keduanya memberikan pengaruh yang sangat nyata ($F_{hit} > F_{tab}$) setelah dilakukan uji lanjut dengan menggunakan uji Beda Nyata Kecil (BNT) memperlihatkan bahwa persentase es ekstrak rumput laut berbeda sangat nyata satu dengan lainnya, untuk lama penyimpanan hari ke-0, 15 dan 20 menunjukkan perbedaan nyata terhadap lama penyimpanan 5 dan 10 hari.

3.3.6 Hasil Analisis Nilai TVB-N Ikan Tongkol Selama 10 JAM di Dalam Sekitar 10% Es (Manggaprouw, A., R. Montolalu dan IK. Suwetja, 2014)

Nilai rata-rata uji TVB-N sampel ikan Tongkol (*Euthynnus affinis*) yang diambil dari pedagang yang berbeda dapat dilihat pada Gambar 3.6.



Gambar 3.6. Histogram Hubungan Waktu Pengambilan Sampel dan Pedagang yang Berbeda Dengan Nilai TVB-N Ikan Tongkol Segar

Nilai rata-rata TVB-N ikan Tongkol (*Euthynnus affinis*) yang terendah adalah 11,2 mg N/100 g sampel pada pengambilan ikan tonngkol jam 06.00 – 07.00 sedangkan nilai rata-rata TVB-N yang tertinggi yaitu 14 mg N/100 g

sampel. Nilai rata-rata terendah pada pengambilan ikan tongkol di jam 12.00 – 13.00 adalah 11,2 mg N/100 g sampel sedangkan nilai rata-rata TVB-N yang tertinggi adalah 14 mg N/100 g sampel. Nilai rata-rata TVB-N yang terendah pada jam 16.00 – 17.00 yaitu 22,4 mg N/100 g sampel, sedangkan nilai rata-rata yang tertinggi adalah 28 mg N/100 g sampel. Dengan melihat data TVB-N yang ada dapat dinyatakan bahwa ikan sampel pada pengambilan jam 06.00 – 07.00, 12.00 – 13.00 dan 16.00 – 17.00 pada ketiga kelompok pedagang masih layak dikonsumsi.

Berdasarkan data yang diperoleh nilai TVB-N meningkat dari pagi hari sampai sore 06.00 – 07.00, 12.00 – 13.00 dan 16.00 – 17.00. Suwetja (1992), menyatakan bahwa nilai TVB-N meningkat seiring dengan peningkatan aktivitas bakteri. *Autolisis* tidak dapat dihentikan walaupun dalam suhu yang sangat rendah. Penggunaan suhu rendah hanya memperlambat proses autolisis (Junianto, 2003).

Data rata-rata nilai TVB-N untuk interaksi waktu pengambilan sampel dan pedagang masih berada di bawah 30 mg N/100 g sampel, hal ini berarti ikan tersebut masih aman untuk dikonsumsi. Menurut Connel (1990) dalam Pongoh (2001), batas kandungan TVB ikan yang masih dapat

diterima oleh konsumen adalah sebesar 30 mg N/100 g sampel. Data hasil uji TVB-N ini sesuai dengan hasil uji nilai pH, yaitu untuk semua interaksi perlakuan nilai pH berkisar 5,43; 5,4; 5,53; 5,46 dan 5,56 dimana nilai pH ini menunjukkan ikan Tongkol yang diambil di Pasar Bahu masih dikategorikan ikan segar.

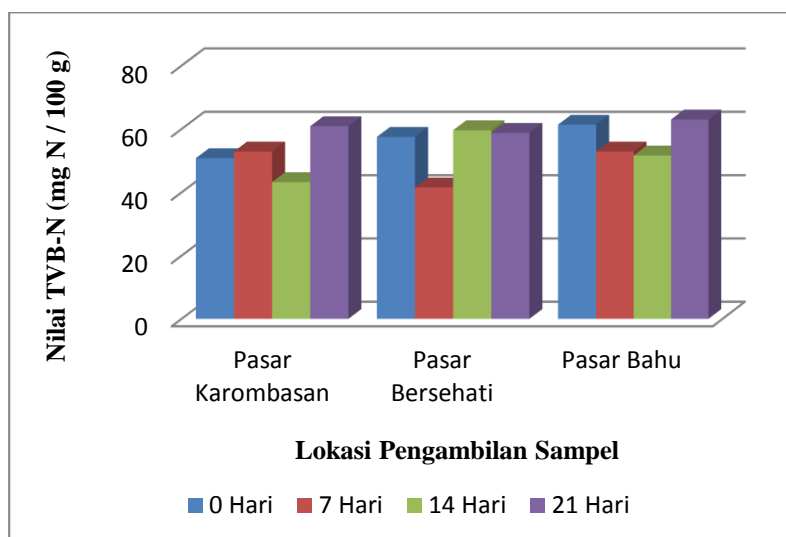
Data di atas menunjukkan bahwa pengambilan sampel jam 06.00 – 07.00, 11.00 – 12.00 dan 16.00 – 17.00 mendapatkan nilai yang cukup lebih rendah dari 30 mg N/100 g sampel ini berarti ikan Tongkol masih layak dikonsumsi.

3.3.7 Hasil Analisis Nilai TVB-N Ikan Roa Asap (Patty, C., V. Dotulong dan IK. Suwetja, 2015)

TVB-N merupakan salah satu indeks kesegaran produk perikanan. nilai ini dapat bersifat untuk menguji tingkat mutu ikan Julung-Julung (*Hemirhamphus* sp) asap yang diambil dari tiga pasar berbeda yang ada di Kota Manado, selama penyimpanan 2 hari pada suhu ruang.

Rata-rata nilai TVB-N ikan Julung-julung (*Hemirhamphus* sp) asap yang diperoleh dari pasar Karombasan pada penyimpanan 0 hari adalah 50,82 mg N/100 g sampel, pada penyimpanan 7 hari adalah 52,92 mg

N/100 g sampel, pada penyimpanan 14 hari adalah 43,26 mg N/100 g sampel, sedangkan untuk penyimpanan 21 hari adalah 60,9 mg N/100 g sampel. Nilai yang diperoleh dari sampel yang diambil di pasar Bersehati pada penyimpanan 0 hari adalah 57,54 mg N/100 g sampel, pada penyimpanan 7 hari adalah 41,58 mg N/100 g sampel, pada penyimpanan 14 hari adalah 59,64 mg N/100 g sampel, sedangkan untuk penyimpanan 21 hari adalah 58,8 mg N/100 g sampel. Dan nilai yang diperoleh dari pasar Bahu pada penyimpanan 0 hari adalah 61,36 mg N/100 g sampel, pada penyimpanan 7 hari adalah 52,92 mg N/100 g sampel, pada penyimpanan 14 hari adalah 51,66 mg N/100 g sampel, sedangkan untuk penyimpanan 21 hari adalah 63 mg N/100 g sampel. Nilai TVB-N pada setiap penyimpanan dapat dilihat pada Gambar 3.7.



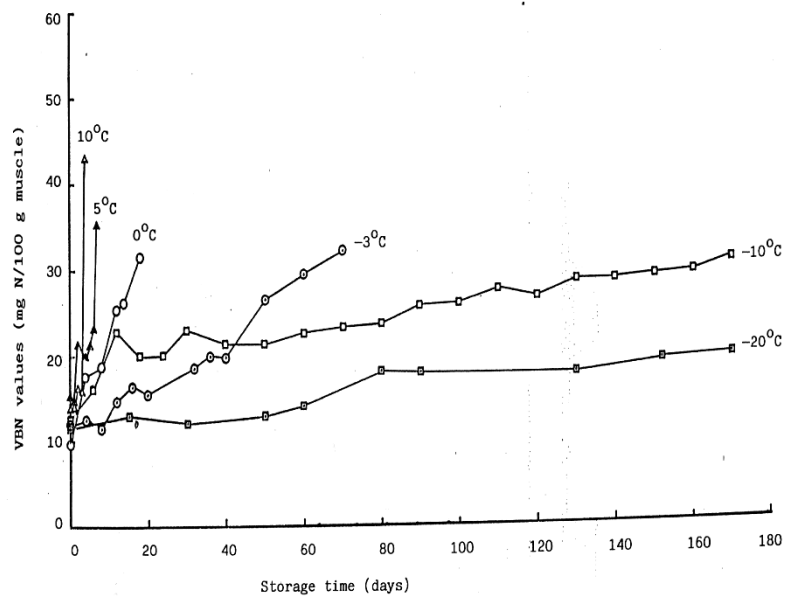
Gambar 3.7. Nilai TVB-N Ikan Julung-Julung (*Hemirhamphus* sp) Asap Selama Penyimpanan 0, 7, 14 dan 21 hari

Gambar 3.7 menunjukkan bahwa nilai TVB-N ikan Roa asap yang diambil di ketiga pasar selama penyimpanan 2 hari mengalami kenaikan suhu di pasar Karombasan dari 50,82 mg N/100 g sampel menjadi 60,9 mg N/100 g sampel. Di pasar Bersehati 57,54 mg N/100 g sampel menjadi 58,8 mg N/100 g sampel. Di pasar Bahu 61,36 mg N/100 g sampel menjadi 63 mg N/100 g sampel. Nilai TVB-N meningkat seiring dengan peningkatan aktivitas bakteri karena salah satu hasil penguraian dari bakteri adalah senyawa yang tergolong basa-basa menguap.

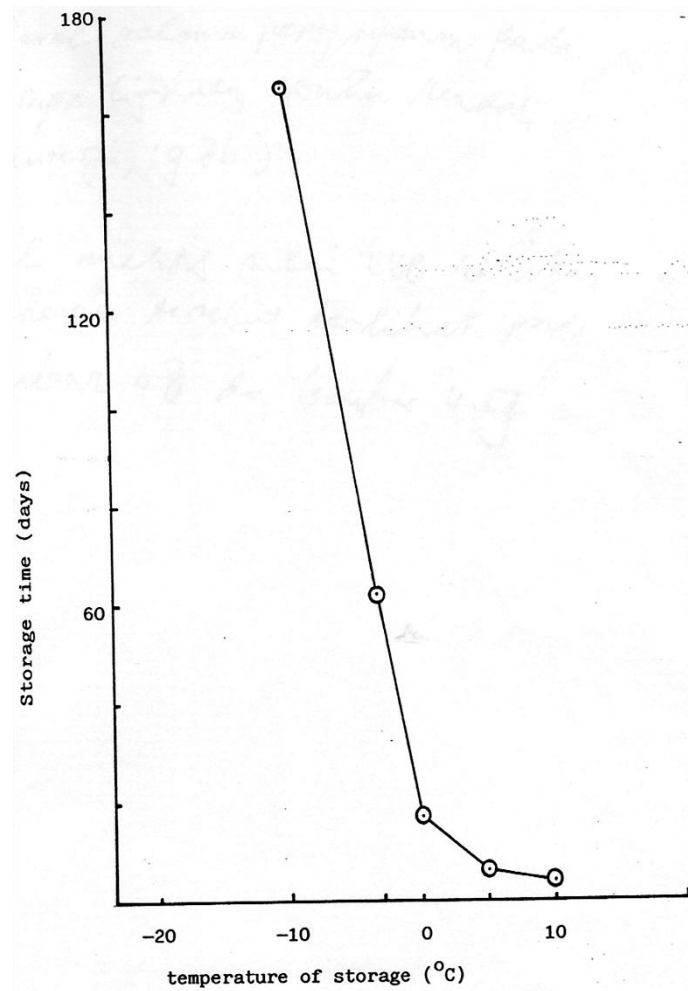
Standar nilai TVB-N ikan olahan menurut SNI 2006 adalah 100 – 200 mg N/100 g sampel. Dari data di atas dapat dilihat bahwa nilai TVB-N untuk ikan Roa (*Hemirhamphus* sp) asap yang ada di ketiga pasar tradisional di Kota Manado masih tergolong bermutu baik. TVB-N digunakan sebagai batasan yang layak dikonsumsi. Peningkatan nilai TVB-N selama penyimpanan diduga disebabkan oleh degradasi protein dan derivatnya sehingga dengan semakin lajunya proses kemunduran mutu oleh mikroba yang menghasilkan sejumlah basa-basa yang mudah menguap seperti amoniak, H₂S dan histamine.

3.3.8 Hasil Analisis Nilai TVB-N Ikan Mackerel Selama Penyimpanan Pada Beberapa Tingkatan Suhu Rendah (Suwetja, 1986)

Hasil analisis nilai TVB-N ikan Mackerel tersebut terlihat pada Gambar 3.8 dan 3.9.



Gambar 3.8 Nilai TVB-N Penyimpanan Selama Beberapa Hari Dengan Temperatur yang Berbeda



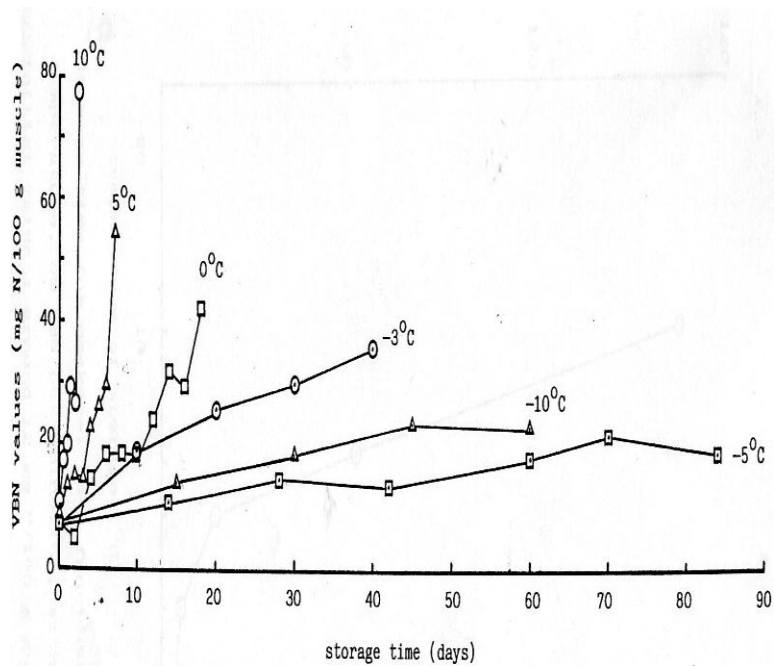
Gambar 3.9. Penyimpanan Mackerel Dengan Suhu Sebagai Penjelasan Uji TVB-N

Ket :

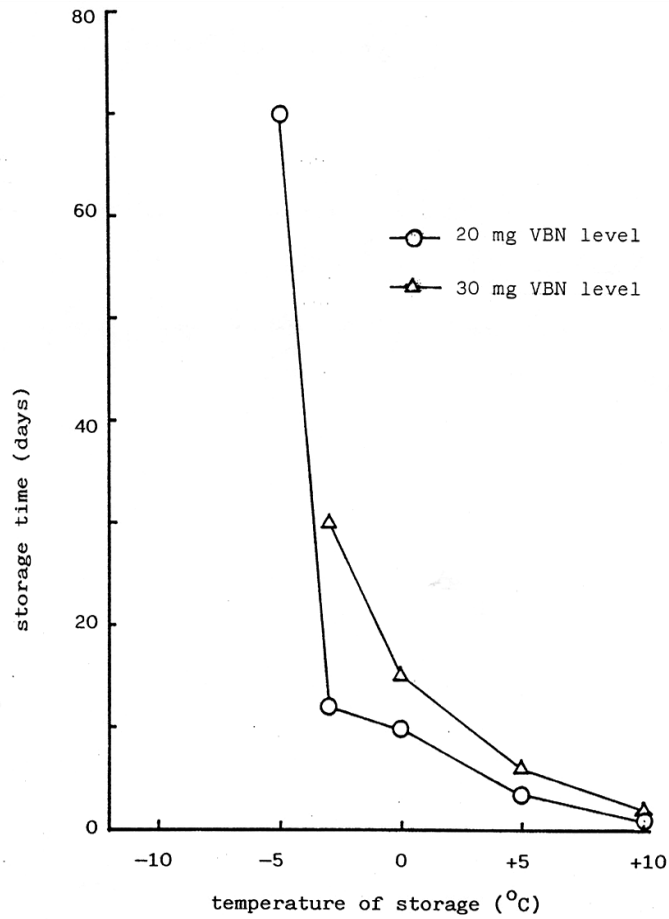
- Nilai awal : Sekitar 12 mg N/100 g daging
- Nilai akhir : Sekitar 30 mg N/100 g daging

3.3.9 Hasil Analisis Nilai TVB-N Udang Barong Selama Penyimpanan Pada Beberapa Tingkatan Suhu Rendah (Suwetja, 1986)

Hasil analisis nilai TVB-N udang Barong tersebut terlihat pada gambar 3.10 dan 3.11.



Gambar 3.10. Nilai TVB-N Penyimpanan Udang Selama Beberapa Hari Dengan Temperatur Rendah yang Berbeda



Gambar 3.11. Penyimpanan Udang Dengan Suhu Sebagai Penjelasan Uji TVB-N

Ket :

- Nilai awal : Sekitar 8 mg N/100 g daging
- Nilai akhir : Sekitar 20 mg N/100 g daging dan sekitar 30 mg N/100 g

BAB 4

METODE PENENTUAN NILAI TMA-N

4.1. Prinsip Penentuan

Uji trimethyl amin nitrogen (TMA-N) adalah salah satu metoda uji kesegaran bakteriologis atau metoda pengukuran hasil aksi bakterial, selain uji TVB-N. Sebagai sumber trimethyl amin (TMA) adalah trimethyl aminoksida (TMAO).

4.1.1 TMAO dan TMA Pada Ikan

TMAO terdapat pada berbagai jenis ikan laut. Kadar TMAO yang tinggi terdapat pada jenis-jenis ikan yang tergolong pada famili Gadoid (Gadidae) yaitu antara lain jenis-jenis cod, haddock, pollack dan pada famili Elasmobranchi. Kadar TMAO yang sedang terdapat pada ikan-ikan jenis pelagis. Kadar TMAO yang rendah terdapat pada jenis ikan sebelah dan ikan air laut yang bermigrasi ke perairan tawar.

Kandungan TMAO berbeda pada spesies ikan yang berlainan, daerah perairan yang berbeda dan perbedaan musim dalam satu tahun, ukuran tubuh ikan serta umur ikan.

Kadar TMAO meningkat saat musim dingin pada ikan dasar dan saat musim panas untuk ikan-ikan pelagis, terutama pada Mackerel dan Sardin (Takada dan Nishimoto, 1958). Kandungan TMAO lebih tinggi pada ikan ekor kuning yang hidup di perairan bebas dari pada yang dikultur. Kandungan TMAO juga lebih tinggi pada ikan-ikan cod, haddock, ekor kuning yang lebih tua daripada yang lebih muda. Juga pada ikan yang ukuran tubuhnya lebih besar akan mengandung TMAO yang besar. Suatu contoh kandungan TMAO yang berbeda menurut jenis, terlihat pada tabel berikut :

Tabel 4.1. Kandungan TMAO pada beberapa jenis ikan

Jenis ikan	Kandungan TMAO (mM TMAO / 100 g)
Cod	7,9 – 10,8
Haddock	4,3 – 5,8
Hake	10,0 – 13,3
Pollack	5,8 – 6,8
Mackerel	2,9 – 3,9
Flounder	3,2 – 7,2

Sumber : Regenstein *et. al.* (1983)

Kandungan TMAO juga berbeda pada bagian-bagian tertentu dari tubuh ikan. Pada daging merah kandungan TMAO lebih tinggi dari daging putih, seperti halnya dengan kandungan lemak (TOKUNAGA, 1974).

4.1.2 Terbentuknya TMAO

1. Sumber TMAO

TMAO pada tubuh ikan tertentu dapat berasal dari luar tubuh, pada jenis ikan lainnya dari dalam tubuh ikan itu sendiri dan pada jenis ikan-ikan tertentu dapat pula berasal dari gabungan luar dan dari dalam tubuhnya.

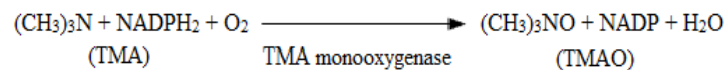
TMAO yang berasal dari luar tubuh ikan dalah dari makanannya. TMAO akan tertimbun dalam tubuh ikan bila ikan itu memakan makanan yang mengandung TMAO dan sebaliknya bila makanannya tidak mengandung TMAO maka dalam tubuh ikan itu tidak terjadi penimbunan TMAO. Pada jenis ikan tertentu, misalnya pada Jack Mackerel kandungan TMAO dalam tubuhnya tidak dipengaruhi oleh makanan yang mengandung TMAO, melainkan dibentuk di dalam suatu sistem metabolisme dalam tubuhnya. Sistem metabolisme ini misalnya terjadi pada jenis-jenis ikan perairan payau yang dipindahkan ke perairan tawar, akan

mengeluarkan TMAO dari tubuhnya sebab TMAO sudah tidak diperlukan lagi dan sebaliknya bila ikakn itu dikembalikan lagi ke perairan payau.

Pada jenis ikan yang ketiga dapat meningkatkan kadar TMAO dalam tubuhnya melalui makanan atau membentuk sendiri dalam tubuhnya. Bila makanannya tidak mengandung TMAO, maka ia dapat meningkatkan TMAO dengan membentuk sendiri dalam tubuhnya untuk keperluan pengaturan metabolisme dalam tubuhnya.

2. Mekanisme terbentuknya TMAO

Dalam tubuh ikan hidup terjadi persamaan reaksi sebagai berikut :

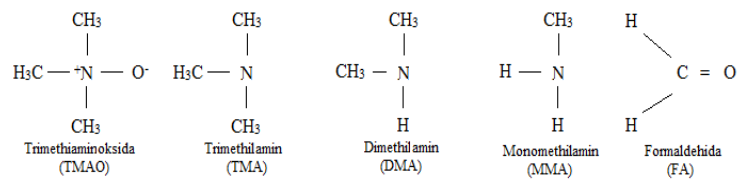


4.1.3 Perombakan TMAO

1. Mekanisme

Setelah ikan mati, TMAO akan terurai oleh enzim reduktase menjadi TMA dan kemudian terurai lagi menjadi unsure-unsur yang lebih sederhana yaitu dimethyl amin (DMA), monomethyl amin (MMA) dan

formaldehid (FA). Struktur TMAO dan turunan-turunannya terlihat pada gambar berikut ini :



Gambar 4.1. Struktur TMAO dan turunan-turunannya.

Mekanisme perombakan dari TMAO menjadi TMA dapat terlihat pada reaksi berikut ini.

Dari reaksi antara format dan NADH akan terbentuk cytochrome tipe b dan akan berkembang menjadi cytochrome tipe c. Kemudian dari sini terbentuklah TMAO reduktase. Enzim inilah yang mengkatalisa perombakan TMAO menjadi TMA.

2. Faktor-faktor yang mempengaruhi perombakan TMAO
 - a. Enzim

Perombakan TMAO terutama dilakukan oleh dua tipe enzim yaitu endogenous dan eksogenous enzim. Endogenous enzim yaitu enzim yang dapat dihasilkan oleh tubuh ikan itu sendiri, sedangkan enzim eksogenous yaitu enzim yang dihasilkan oleh bakteri.

Enzim ini yang berperan utama dalam proses pembusukan ikan.

Jenis-jenis bakteri penghasil enzim ini terutama adalah *Pseudomonas* spp, lalu disusul oleh *Achromobacter*, *Aeromonas* dan *Vibrio* spp. Dari golongan *Pseudomonas* spp yang terutama adalah *P. putrefaciens*, yang disebut sebagai penghasil utama TMA. Sekitar 80% TMA yang terbentuk dihasilkan oleh bakteri ini. *Achromobacter* tergolong ke dalam jenis flora.

Endogenous enzim, dalam daging ikan-ikan pelagis terdapat enzim yang mampu merombak TMAO, sedangkan enzim dalam daging putih tidak mampu. Dari hasil penelitian para ahli menunjukkan bahwa TMA meningkat secara nyata dalam daging merah walaupun dalam kondisi aseptis, namun peningkatan TMA tidak terjadi pada daging putih.

Ikan dapat diklasifikasikan ke dalam tiga golongan enzim dalam tubuhnya yaitu : 1.) Golongan ikan yang endogenous enzimnya aktif pada daging merah antara lain ikan Tuna, Cakalang dan Sardin, 2) Enzimnya kurang aktif baik pada daging merah maupun pada

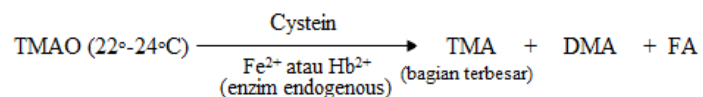
daging putih antara lain pada kembung dan saury,
 3) Enzimnya aktif sekali pada daging putih maupun daging merah, antara lain pada cod dan golongan ikan-ikan gadoid.

b. Temperatur

Temperatur optimum yang diperlukan oleh jenis-jenis bakteri tertentu dalam perombakan TMAO adalah 37°C bagi *E. coli*, *Achromobacter* dan *Serratia marcescens*, 25°C bagi *P. putrefaciens*, sekitar 40°C bagi *P. myxogenes*. seluruh bakteri ini terhambat kegiatannya pada temperatur di bawah 0°C.

c. Faktor lain

Yaitu cystein (asam amino) dengan didukung oleh katalisator Fe²⁺ atau Hb²⁺.



3. Hasil perombakan TMAO

Seperti terlihat pada reaksi di atas, TMAO terombak dengan adanya cystein dan indikatorion Fe atau Hb, menjadi TMA dalam jumlah yang terbanyak, DMA dan FA.

DMA dan FA, dalam tubuh ikan, kadar DMA dan FA yang paling tinggi terdapat pada isi perut. Kadarnya cukup banyak pada kulit dan paling sedikit pada daging.

TMA, akan terhambat pembentukannya pada ikan yang digarami atau dibekukan. Disamping keterangan di atas, ada pendapat yang berbeda (Hebard, 1980), yang menyatakan bahwa TMA tidak dapat terbentuk dalam kadar yang cukup pada reaksi non enzimatis, sama halnya dengan pembentukan DMA dan FA.

4.1.4 TMA Sebagai Indeks Mutu Ikan

Pada ikan dengan kadar TMA 4-6 mg/100 g daging, bau ikan segar masih nyata, namun pada kadar TMA 10 mg/100 g daging, bau ikan segar sudah mulai hilang (Hebard, 1980). TMA itu sendiri tidak memberikan bau ikan rusak. Bau ikan rusak akan timbul bila TMA bereaksi dengan lemak dalam tubuh ikan itu sendiri.

Banyak ahli berpendapat bahwa batasan kesegaran ikan yang dinilai dengan uji TMA adalah 5 mg/100 g daging. Batasan ini diberikan oleh (Montgomery *et. al.*, 1970) yang meneliti tentang udang di pasaran Australia dan Jepang, pada ikan cod dan haddock oleh banyak ahli lainnya.

Kecepatan pembusukan pada ikan air tawar sangat berbeda dengan pembusukan pada ikan air laut. (Balakrisman *et. al.*, 1971) melaporkan bahwa pada ikan air tawar yang diletakkan di es, reaksi autolisis nampak lebih dominan daripada penguraian oleh bakteri.

4.1.5 Pengaruh Penyimpanan dan Prosesing Terhadap Nilai TMA

Kecepatan peningkatan nilai TMA selama penyimpanan akan berbeda-beda pada suhu yang berlainan. Pada suhu di bawah 0°C nilai TMA hampir tidak meningkat. Jadi TMA tidak baik digunakan sebagai indeks kualitas pada ikan beku, ikan dengan kualitas sama bila disimpan pada suhu lebih rendah, nilai TMA-nya akan lebih rendah.

Penentuan kadar TMA biasanya dilakukan untuk mengetahui kualitas ikan mentah-segar dan tidak terhadap ikan yang telah diproses. Ikan dalam bentuk dicincang umumnya mengandung TMA lebih besar daripada ikan dalam bentuk fillet, sebab proses pencincangan mempercepat peningkatan nilai TMA.

Masih banyak pertentangan hasil penelitian untuk menyatakan pengujian TMA sebagai indeks kualitas yang dapat diakui secara sah dan menyeluruh. Pengujian TMA

sebagai indeks kualitas umumnya dilakukan pada hal-hal tertentu saja, misalnya sebagai penunjang terhadap hasil pengujian sensoris.

4.2. Metode Penentuan

4.2.1 Metoda Conway's Microdiffusi

Prosedur pengujiannya sama dengan pada pengujian TVB-N seperti dijelaskan sebelumnya, hanya di sini perlu penambahan 1 ml formaldehid ke dalam larutan sampel pada ruangan luar dari cawan conway.

Tujuan penambahan larutan formaldehid adalah untuk mengikat amonia yang ada dan terbentuk pada larutan contoh, sehingga yang diuji hanya TMA-N.

Cara menghitung kadar TMA-N sama seperti menghitung kadar TVB-N.

4.2.2 Prosedur Pengujian TMA-N Dengan Metode Conway (Suwetja, 1993)

1. Alat dan Bahan yang digunakan :

Alat yang digunakan: cawan conway, mikro buret, batang gelas pengaduk, inkubator, glass ware, cawan porselin, mortar dan *cool box*.

Bahan yang dibutuhkan :

- Ikan.
 - Larutan 7,5% TCA .
 - Larutan 1% asam borat.
 - Larutan potassium karbonat jenuh.
 - Larutan encer asam chloride.
 - Kertas saring no. 2.
 - Vaseline.
 - Larutan indikator, campuran 0,066% methyl red (MR) dan 0,033% bromocresol green (BCG) dengan perbandingan yang sama dilarutkan dalam ethil alkohol.
 - Larutan formaldehid.
2. Persiapan bahan kimia
- Larutan 7,5% TCA :
7,5 gram kristal TCA dilarutkan dalam air suling hingga mencapai 100 ml larutan
 - Larutan 1% Asam Borat :
Timbang 1 gram asam borat dilarutkan dalam air suling hingga mencapai 100 ml larutan.

- Larutan Potassium Karbonat Jenuh :
K₂CO₃ dilarutkan dalam air suling hingga jenuh, kejenuhan dilihat sampai ada endapan.
- Laruan HCL :
Larutan HCL 8 N; pipet 1,25 ml HCL larutkan ke dalam 100 ml air suling untuk mendapatkan larutan HCL 1 N. Selanjutnya pipet 2 ml HCL 1 N larutkan dengan air suling hingga mencapai 100 ml larutan HCL 0,02 N.
- Larutan indikator :
Campurkan 0,066% methyl red dengan 0,033% BCG dalam etanol. Untuk mendapatkan larutan indikator 100 ml, timbang 0,066 g MR dengan 0,033 g BCG larutkan dalam etanol hingga mencapai 100 ml larutan.

4.2.3 Cara Analisa TMA-N

- Timbang 5 gram sampel dihancurkan dengan mortar dan tambahkan 10 ml TCA 5%. Setelah hancur rata dibiarkan dalam temperatur ruangan selama 30 menit.
- Ekstraksi daging ikan disaring dengan kertas saring.

- Pipet 1 ml asam borat 1% masukkan dalam cawan conway bagian tengah cawan conway dan teteskan 2 tetes larutan indikator.
- Pipet 1 ml larutan filtrat dan 1 ml formaldehid masukkan pada bagian tengah cawan dan penutup cawan dalam posisi setengah terbuka.
- Selanjutnya pipet 1 ml K_2CO_3 jenuh masukkan dalam cawan conway bagian kiri luar cawan conway dan penutup cawan ditutup.
- Cawan diputar-putar beberapa kali supaya larutan sampel dan larutan potassium karbonat dapat tercampur.
- Bersamaan dengan itu lakukan juga blanko dimana sampel diganti dengan TCA 7,5%.
- Cawan tersebut disimpan dalam inkubator selama 80 menit dengan suhu $37^\circ C$.
- Bagian tengah yang mengandung asam borat (berwarna hijau) titrasi dengan HCL 0,02 N. Setelah terjadi perubahan warna menjadi merah muda kembali titrasi dihentikan. Baca berapa ml HCL 0,02 N yang terpakai untuk mentiler.
- Perhitungan kadar TMA-N adalah 100 g daging ikan.

$$= (x-a) \times 0,28 \times \text{pengenceran}$$

- x = jumlah ml HCL yang dipakai untuk mentiler larutan sampel.
- a = jumlah ml HCL yang dipakai untuk mentiler larutan blanko.
- 0,28 = jumlah amonium nitrogen yang setara dengan 1 ml 0,02 N larutan HCL.

4.3. Hasil-Hasil Penelitian

4.3.1 Hasil Analisis Nilai TMAN Ikan Layang Diawet dengan Es Air Kelapa (Seke, D., IK. Suwetja dan H. Onibala, 2005)

Data nilai Tri Methyl Amin Nitrogen (TMA-N) untuk daging ikan layang yang diberi penanganan dengan es air kelapa dihubungkan dengan beberapa lama penyimpanan, masing-masing dapat dilihat pada tabel 4.2 berikut ini.

Tabel 4.2 data TMA-N dalam mg N/100 g daging

Konsentrasi (%)	Waktu (hari)	Ulangan			Rata-rata
		1	2	3	
0	0	1,12	1,12	1,12	1,12
0	6	2,24	2,24	1,12	1,87
0	12	3,36	2,24	3,36	2,99
0	18	3,36	3,36	3,36	3,66
25	0	1,12	1,12	1,12	1,12
25	6	1,12	2,24	1,12	1,49
25	12	2,24	2,24	1,12	1,87
25	18	2,24	2,24	3,36	2,61
50	0	1,12	1,12	1,12	1,12
50	6	1,12	1,12	1,12	1,12
50	12	1,12	1,12	2,24	1,5
50	18	2,24	2,24	2,24	2,24
75	0	1,12	1,12	1,12	1,12
75	6	2,24	2,24	2,24	2,24
75	12	2,24	3,36	2,24	2,61
75	18	3,36	2,24	3,36	2,99

Data tersebut menunjukkan bahwa pada daging ikan layang nilai TMA-N tertinggi pada konsentrasi es air kelapa 0%, 25% dan 75% dengan lama penyimpanan 18 hari. Sedangkan nilai TMA-N terendah terdapat pada konsentrasi es air kelapa 50% dengan lama penyimpanan 0, 6, 12 maupun 18 hari. Data nilai rata-rat TMA-N daging dari 4 periode lama penyimpanan dapat dilihat pada Tabel 4.3 berikut ini.

Tabel 4.3. Data Nilai Rata-rata TMA-N Dalam Daging Dari 4 Periode Lama Penyimpanan

Konsentrasi (%)	Nilai Rata-rata TMA-N
0	2,41
25	1,77
50	1,50
75	2,24

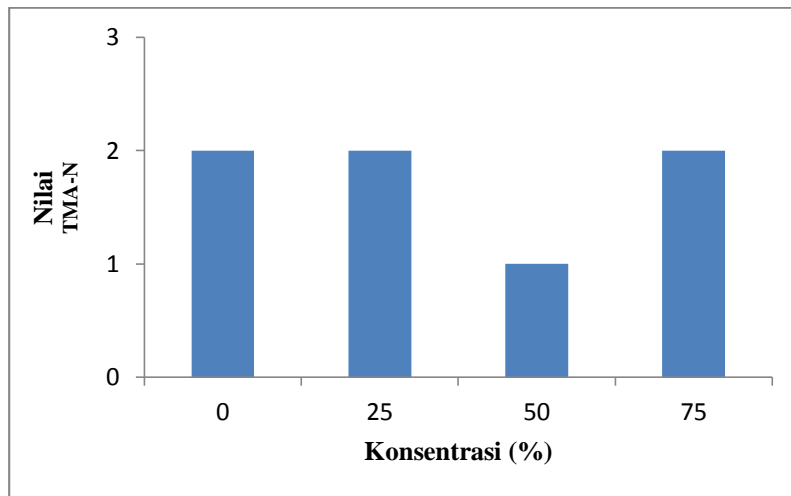
Dari data yang ada menunjukkan bahwa nilai rata-rata TMA-N dalam daging tertinggi, pada konsentrasi es air kelapa 75% sebesar 2,24 mg N/100 g daging sedangkan nilai TMA-N dalam daging.

Data nilai rata-rata TMA-N dari 4 perlakuan konsentrasi dapat dilihat pada Tabel 4.4 berikut ini. Dari data yang ada menunjukkan bahwa nilai TMA-N rata-rata dalam daging tertinggi yaitu pada lama penyimpanan hari ke 18 diikuti dengan lama penyimpanan hari ke 18 diikuti dengan lama penyimpanan 6 dan 12 hari.

Tabel 4.4. Data nilai rata-rata TMA-N dalam daging dari 4 perlakuan konsentrasi (0, 25, 50 dan 75%)

Lama penyimpanan (hari)	Nilai Rata-rata TMA-N
0	1,12
6	1,68
12	2,15
18	2,88

Grafik hubungan konsentrasi es air kelapa dengan nilai TMA-N dalam daging dapat dilihat pada Gambar 4.2 berikut ini.

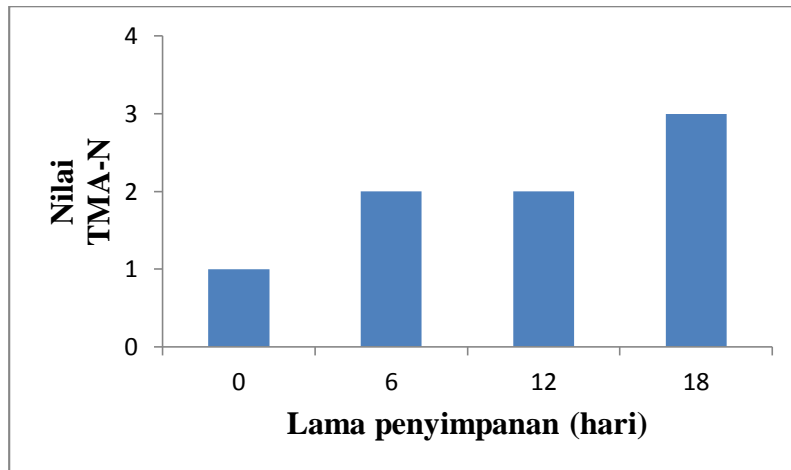


Gambar 4.2. Grafik hubungan antara konsentrasi es air kelapa dengan TMA-N daging.

Ket. : Nilai adalah rata-rata dari 4 periode lama penyimpanan (0, 6, 12 dan 18 hari)

Pada Gambar 4.2 menunjukkan bahwa untuk nilai rata-rata TMA-N daging pada konsentrasi 25 dan 50% mendekati sama, sedangkan pada konsentrasi es air kelapa 75% nilai TMA-N daging meningkat, namun kenaikannya masih dalam batas dapat diterima oleh konsumen. Adapun grafik

hubungan antara lama penyimpanan dengan TMA-N dalam daging dapat dilihat pada Gambar 4.3 berikut ini.



Gambar 4.3. Grafik hubungan antara lama penyimpanan dengan nilai TMA-N

Ket. : Nilai adalah rata-rata dari 4 perlakuan konsentrasi (0, 25, 50 dan 75%)

Dapat dilihat pada grafik kenaikan nilai rata-rata TMA-N daging mulai dari lama penyimpanan 0 hari sampai pada lama penyimpanan 18 hari. Nilai rata-rata TMA-N daging tertinggi yaitu pada lama penyimpanan 18 hari sedangkan nilai rata-rata TMA-N daging terendah yaitu pada lama penyimpanan 0 hari. Dengan demikian semakin lama penyimpanan maka kecenderungan TMA-N dalam daging makin bertambah. Data hubungan konsentrasi dan lama

penyimpanan terhadap nilai rata-rata TMA-N dalam daging dapat dilihat pada Tabel 4.5 berikut ini.

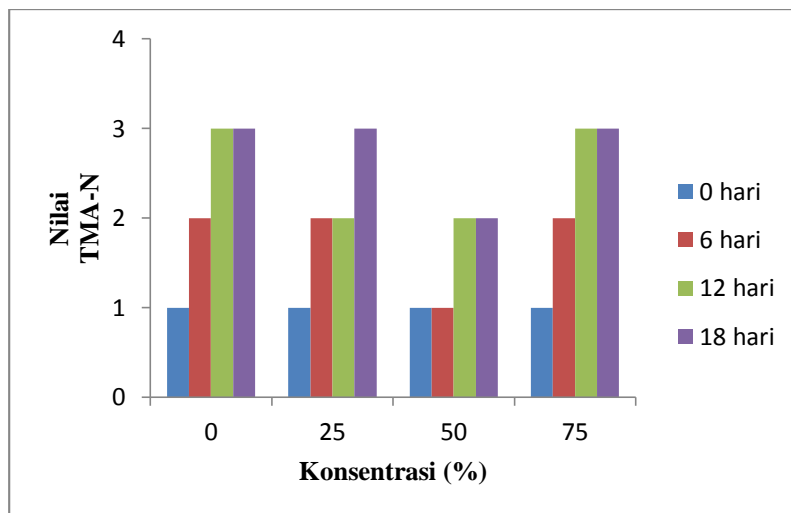
Tabel 4.5. Data Hubungan Antara Konsentrasi Lama Penyimpanan Terhadap Nilai Rata-rata TMA-N Dalam Daging

Konsentrasi (%)	Lama Penyimpanan (hari)			
	0	6	12	18
0	1,12	1,87	2,99	3,36
25	1,12	1,49	1,87	2,61
50	1,12	1,12	1,49	2,24
75	1,12	2,24	2,61	2,99

Dari data rata-rata TMA-N dalam daging pada Tabel 4.5 di atas menunjukkan nilai tertinggi yaitu pada konsentrasi 0% (tanpa air kelapa) dengan lama penyimpanan 18 hari sebesar 3,36 mg N/100 g daging, sedangkan nilai terendah pada konsentrasi 50% baik pada lama penyimpanan 6, 12 sampai 18 hari, dengan demikian dapat diduga bahwa air kelapa dapat mempengaruhi nilai TMA-N dalam daging.

Adapun grafik hubungan antara konsentrasi dapat dilihat pada Gambar 4.4, dari grafik tersebut menunjukkan bahwa pada konsentrasi es air kelapa 50% nilai TMA-N dalam daging adalah rendah mulai dari lama penyimpanan 6 hari sampai hari yang ke 18. Kenaikan nilai TMA-N

daging pada konsentrasi 50% tidak begitu berarti. Batas penerimaan ikan dengan uji mutu nilai TMA-N, menurut (Cobb dan Vardezant, 1975) *dalam* (Suwetja, 1993). Sebesar 4 – 6 mg N/100 g daging. Dengan demikian untuk perlakuan dengan menggunakan es air kelapa dan dengan uji mutu TMA-N daging masih dapat diterima oleh konsumen.



Gambar 4.4. Hubungan antara konsentrasi dan lama penyimpanan terhadap nilai TMA-N dalam daging.

Data analisis sidik ragam dan uji lanjut Duncan menunjukkan pengaruh sangat nyata antara konsentrasi es air kelapa dan lama penyimpanan terhadap nilai TMA-N sedangkan interaksi antara konsentrasi dan lama

penyimpanan menunjukkan pengaruh yang nyata. Untuk uji lanjut Duncan menunjukkan bahwa pada konsentrasi 50% sama dengan konsentrasi 25% tetapi berbeda nyata dengan konsentrasi 75% dan konsentrasi 0%. Demikian pula dengan konsentrasi 75% sama dengan konsentrasi 0% tetapi berbeda nyata dengan konsentrasi 50% dan 25%.

Dari data di atas disimpulkan bahwa untuk konsentrasi 0% es air kelapa pada lama penyimpanan hari ke 18 nilai TMA-N adalah 3,36 mg N/100 g daging merupakan nilai yang tertinggi, mendekati batas penerimaan. Hal ini diduga bahwa dengan menggunakan es air kelapa dapat memperpanjang masa simpan dengan uji mutu TMA-N yang rendah dan bervariasi, sebab pada konsentrasi 0% hari ke 18 tidak menggunakan perlakuan air kelapa, terjadi kenaikan nilai TMA-N yang cukup tinggi 3,38 mg N/100 g daging. Kemungkinan saat penyimpanan dengan tidak menggunakan es air kelapa terjadi kerusakan jaringan pada tubuh ikan. Dapat disimpulkan bahwa dengan perlakuan konsentrasi es air kelapa 50% dapat dianjurkan untuk diterapkan oleh konsumen.

BAB 5

METODE PENENTUAN KADAR HISTAMIN

5.1. Prinsip Penentuan

Histidin merupakan suatu asam amino yang merupakan precursor pembentuk histamin. Histidin bebas umumnya dihasilkan dari degradasi protein pada saat ikan mengalami pembusukan (Kimata, 1961). Penyebab kebusukan pada ikan yaitu adanya perombakan senyawa-senyawa kompleks menjadi sederhana oleh aktivitas bakteri setelah ikan mati (Mulyanto, 1986). Histamin terbentuk dari histidin yang dikatalis oleh enzim histidin dekarboksilase yang dihasilkan oleh bakteri (Azudin dan Saari, 1989; Gopakumar *et. al.*, 1989).

Adanya enzim ini pada ikan yang memproduksi histamin merupakan implikasi dari kegiatan bakteri. Senyawa histamin mungkin tidak berbau busuk, tetapi keberadaannya dalam daging ikan menjadi berbahaya. Senyawa histamin mungkin tidak berbau busuk, tetapi keberadaannya dalam daging ikan menjadi berbahaya. Senyawa tersebut bersifat racun dan dalam beberapa hal dapat menimbulkan keracunan.

Keracunan scombroid pertama kali dilaporkan terjadi di Indonesia pada tahun 1950-an, akibat mengkonsumsi ikan Cakalang yang mungkin sudah mengalami pembusukan (Winarno, 1993). Gejalanya terlihat dalam beberapa menit sampai 3 jam sesudah pencernaan menerima makanan yang mengandung racun. Hal ini sering terjadi pada bagian wajah dan leher bersamaan dengan rasa yang sangat panas, tidak nyaman dan diare. Gejala lain yaitu pusing, rasa gatal dan tidak mampu untuk berjalan.

Hendry (1960) dalam Martin *et. al.* (1984) mengelompokkan secara kuantitatif keracunan histamin atas 3 kelompok yaitu keracunan ringan (8 – 40 mg histamin/100 g). Keracunan sedang (70 – 1000 mg/100 g) dan keracunan berat (1500 – 4000 mg/100 g). Dari ketiga kelompok keracunan tersebut yang paling sering terjadi, keracunan sedang diikuti keracunan ringan dan yang paling jarang terjadi yaitu keracunan berat. Pada produk perikanan, kadar histamin pada daging ikan sangat bervariasi tergantung pada ukuran, jenis dan kondisi ikan. Ambang batas keracunan akibat kandungan histamin pada ikan scombroid yang mulai rusak berkisar 10 mg/100 g. Konsentrasi kritis untuk keracunan histamin adalah 100 mg/100 g daging ikan (Syaiful, 1975;

Karmas dan Mietz, 1978; Winarno 1993). Selanjutnya *Food and Drug Administration* (FDA)-Amerika Serikat, menetapkan bahwa kandungan histamin 20 mg/100 g daging ikan menunjukkan adanya indikasi penanganan yang tidak higienis, sedangkan kandungan histamin 50 mg/100 g daging pada ikan tuna sudah menyebabkan keracunan. Untuk ikan yang dikalengkan, syarat kimia histamin adalah 5 mg/100 g dengan bakteri anaerob negatif (Nasran, 1989).

Pembentukan histamin hampir terhenti pada suhu 5°C, sedangkan pada suhu 0°C hampir tidak terbentuk (Masayo, 1981). Jadi, jumlah histamin yang terbentuk tergantung pada suhu ruang. Terbentuknya histamin dapat dicegah dengan berbagai tindakan seperti, pemberian es dan menghindari kontaminasi baik dari pekerja maupun wadah yang digunakan sejak produk ikan tertangkap. Winarno (1993) menyatakan bahwa, ikan yang lambat diberi es dapat memiliki kandungan histamin dua kali lipat dibandingkan dengan ikan yang langsung diberikan perlakuan pengesasan. Demikian juga total bakterinya 10 sampai 20000 kali lebih besar, walaupun pH-nya belum mengalami perubahan. Oleh sebab itu, pengesasan pada ikan tuna mutlak dilakukan terutama untuk menekan aktivitas enzim histidin

dekarboksilase yang merangsang pembentukan histamin. Rasio es dengan ikan yang digunakan untuk pengesasan sangat penting diperhatikan, karena semakin besar rasio semakin baik. Rasio es dengan ikan 1 : 2 sudah dapat menjamin suhu pendinginan 0°C dan suhu tubuh ikan tidak akan lebih tinggi dari 10°C.

5.1.1 Mikroba Penghasil Histamin

Bakteri yang aktif pada proses pembusukan bertanggung jawab akan adanya histamin. Bakteri yang berperan dalam pembentukan histamin adalah: *Proteus morganii*, *Hafnia alfei*, *Klebsiella pneumonia*, *Clostridium perferingens*, *Lactobasillus* sp, *Enterobacter aerogenes*, *Eschrichia* sp, *Salmonella* sp, *Shigella* sp, *Clostridium* sp, *Klebsiella* sp, *Aeromonas* sp, *Photobacterium* sp dan *Vibrio* sp (Wei *et. al.*, 1990; Gopakumar *et. al.*, 1988; Azudin dan Saari, 1988). Bakteri-bakteri yang diisolasi dari ikan laut yang memproduksi histamin dapat dilihat pada Tabel 5.1.

Proteus morganii adalah bakteri yang paling dominan dalam menghasilkan histamin kemudian diikuti oleh *Hafnia alvei* dan *Klebsiella pneumonia* (Sally *et. al.*, 1980; Ronald *et. al.*, 1979; Kimata, 1961; Masayo *et. al.*, 1981; Infofish, 1987 dan Gopakumar, 1988).

Bakteri yang dipisahkan dari Skipjack Tuna dan Jack Mackerel yang mempunyai kemampuan memproduksi histamin diperoleh 44 strain, dimana 21 strain adalah *Proteus morganii*, 13 strain adalah *Hafnia alvei*, 1 strain adalah *Klebsiella*, 3 strain adalah *Proteus* lain dan 6 strain tidak dapat diidentifikasi, yang merupakan kelompok bakteri pembentuk histamin.

Tabel 5.1. Bakteri Penghasil Histamin Yang Terdapat Pada Ikan Laut

No.	Bakteri	Terdapat Pada Ikan
1.	<i>Citrobacter freundii</i>	Skipjack Tuna.
2.	<i>Clostridium perferingens</i>	Skipjack Tuna.
3.	<i>Edwarsiella sp</i>	Mahi-mahi.
4.	<i>Enterobacter aerogenes</i>	Skipjack Tuna, Mahi-mahi, Tuna.
5.	<i>Enterobacter cloacae</i>	Tuna.
6.	<i>Escherichia coli</i>	Toxic Tuna, Tuna.
7.	<i>Hafnia alvei</i>	Toxic Tuna, Skipjack Tuna, Tuna, Jack Mackerel.
8.	<i>Klebsiella pneumonia</i>	Toxic Tuna, Mahi-mahi, Mackerel, Skipjack Tuna.
9.	<i>Klebsiella sp</i>	Skipjack Tuna, Jack Mackerel.
10.	<i>Proteus mirabilis</i>	Toxic Bigeye Tuna, Skipjack Tuna.
11.	<i>Proteus morganii</i>	Toxic Bigeye Tuna, Skipjack Tuna, Jack Mackerel Tuna, Mahi-mahi, Mackerel.
12.	<i>Proteus sp</i>	Toxic Tuna, Skipjack Tuna, Jack Mackerel, Mackerel.
13.	<i>Proteus vulgaris</i>	Toxic Bigeye tuna.
14.	<i>Vibrio alcaligenes</i>	Skipjack Tuna.
15.	<i>Vibrio sp</i>	Mackerel.

Sumber : Infofish (1987)

Proteus morganii adalah bakteri yang sangat kuat dalam mendekarboksilasi histidin. Sifat-sifat dari *Proteus morganii* adalah berbentuk batang, melakukan pergerakan dengan flagella, ukuran 0,5 – 0,4 mikron serta bersifat gram-Negatif (Kimata, 1961). *Proteus morganii* termasuk famili enterobacteriaceae yang merupakan mikroflora yang tumbuh pada permukaan ikan segar yang hidup di laut. Suhu untuk pertumbuhan berkisar antara 20 – 25°C dan pH berkisar antara 6 – 7 (Masayo *et. al.*, 1981).

Secara fisiologis histamin dalam dosis yang rendah diperlukan sebagai fungsi normal system tubuh (Infofish, 1987). Histamin mempunyai fungsi penting dalam tubuh yaitu dihubungkan dengan fenomena fisiologis, patologis terutama dengan pelepasan histamin pada reaksi anafilaksis dan alergi. Reaksi antigen, antibodi menyebabkan pelepasan histamin sehingga terjadi fase dilatasi, gatal dan endema. Pelepasan histamin selama terjadinya reaksi antigen-antibodi telah diperlihatkan oleh beberapa peneliti. Histamin telah diketahui merupakan perantara terjadinya fenomena hipersensitivitas (Syamsudin, 1980).

Keeracunan histamin jarang terjadi dan biasanya terjadi karena overdosis. Gejala utama yang timbul yaitu: fase

dilatasi umum, shock, sakit kepala, diare, muntah-muntah, perut bengkak, bibir bengkak dan rasa terbakar pada tenggorokan.

5.1.2 Nilai Ambang Kadar Histamin Pada Makanan

Beberapa negara tidak mempunyai batas pengaturan histamin pada makanan, seperti ikan, karena tidak mengetahui mekanisme dari racun tersebut (Infofish, 1987). Pengaturan batas histamin pada beberapa negara dapat dilihat pada Tabel 6.3. Sanianto *dkk.* (1987) menyatakan bahwa USA adalah salah satu negara yang mempunyai pengaturan batas histamin, yaitu 20 mg % yang merupakan kadar yang berpengaruh pada kesehatan manusia, sedangkan 50 mg % adalah yang dianggap berbahaya. Di Swedia yang dianggap berpengaruh pada kesehatan manusia yaitu 20 mg % sehingga jumlah maksimum histamin yang diizinkan terdapat pada ikan harus lebih rendah. Di Switzerland, batas yang diterapkan untuk ikan kaleng adalah 10 mg %. Di Czechoslovakia, batas kandungan histamin pada makanan yaitu 40 mg % dan dianjurkan konsentrasi yang lebih rendah yaitu 20 mg %. Jiri Pavelka dan kawan-kawannya di Central State Veterinary Institut di Czechoslovakia menganjurkan beberapa batas pengaturan histamin, yaitu 20 mg % untuk

ikan Mackerel dan tuna beku, 30 mg % untuk ikan kaleng, dan 50 mg % untuk ikan yang diawetkan seperti anchovi (Taylor, 1983).

Pada umumnya kerusakan dan kebusukan ikan banyak kaitannya dengan kadar histamin. Oleh karena itu berbagai negara mulai menetapkan batas maksimum (MRL = Maximum Residu Limit) di dalam peraturan-peraturan mereka. Satuan kadar histamin dalam daging Tuna dapat dinyatakan dalam mg/100 gr, mg % atau ppm (= mg/1000 g) (Winarno, 1993).

Amerika Serikat menetapkan MRL sebanyak 20 mg/100 g. Jerman Barat 25 mg/100 g (Winarno, 1993). Swedia menetapkan 20 mg/100 g sebagai jumlah maksimum histamin yang diizinkan untuk ikan yang hendak dijual dan Swiss menetapkan 10 mg/100 g bagi produk-produk ikan kaleng, sementara Czechoslovakia menetapkan batas maksimum kadar histamin pada makanan sebesar 40 mg/100 g (Sarnianto *dkk.*, 1984).

Menurut Food and Drug Administration (FDA) kadar histamin yang berbahaya bagi kesehatan yaitu sebanyak 50 mg/100 g. Jumlah tersebut mengindikasikan penanganan ikan yang tidak baik (Anggawati *dkk.*, 1984).

Badan Standarisasi Nasional telah menetapkan batasan standar histamin untuk produk-produk perikanan yang akan diekspor. Batasan standar histamin untuk beberapa produk perikanan ekspor dapat dilihat pada Tabel 5.2 berikut ini.

Tabel 5.2. Batasan Standar Histamin Beberapa Produk Perikanan Ekspor

Jenis Produk	Batasan Standar Histamin (maks)	Satuan	Kode SNI
Tuna Loin Mentah Beku	10	mg/100 g	SNI 01-41041996
Tuna Steak Beku	10	mg/100 g	
Sashimi	10	mg/100 g	
Tuna Dalam Kaleng	20	mg/100 g	SNI 01-2712-1992
Ikan Tuna Beku	20	mg/100 g	SNI 01-2710-1992
Meka Steak Beku	5	mg/100 g	SNI 01-4871-1998

Sumber : Anonimus, 1984

Tabel 5.3. Pengaturan Batas Hastamine Oleh Beberapa Negara.

No.	Negara	Konsentrasi	Keterangan
1.	USA	20 mg % 50 mg %	Penanganan yang salah Berbahaya
2.	Canada	10 mg %	Pembusukan representative
3.	FR Germany	20 mg %	Pembusukan representative
4.	Denmark	30 mg %	Berpengaruh pada kesehatan manusia
5.	Swedia	20 mg %	Berpengaruh pada kesehatan manusia

Sumber : Infofish, 1987

5.1.3 Metabolisme Histamin

Histamin mempunyai fungsi penting dalam tubuh yaitu berhubungan dengan fenomena fisiologis dan patologis, terutama dalam proses pelepasan histamin pada reaksi anafilaksis dan alergi. Secara fisiologis histamin dalam dosis rendah diperlukan untuk fungsi normal tubuh (Infofish, 1987; Sjamsudin dan Dewoto, 1995).

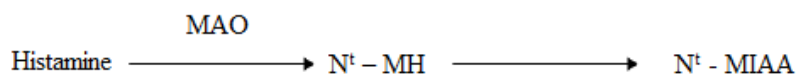
Telah diketahui bahwa perantara terjadinya fenomena hipersensitifitas adalah histamin (Sjamsudin, 1980; Ragelis, 1984). Reaksi antigen, antibodi menyebabkan pelepasan histamin sehingga terjadi fase dilatasi, gatal dan endema. Reaksi tersebut telah diperlihatkan oleh hasil penelitian para peneliti. Keracunan scombroid disebabkan oleh pencernaan makanan yang tidak biasa mengandung histamin dalam dosis yang tinggi.

Histamin pada awal abad ke-19 telah diisolasi dari jaringan hati dan paru-paru segar, selanjutnya dapat ditemukan pada berbagai jaringan tubuh. Histamin eksogen bersumber dari daging dan bakteri dalam usus yang membentuk histamin dari histidin. Sebagian histamin ini diserap kemudian bagian terbesar akan dihancurkan dalam hati, sedangkan sebagian kecil masih ditemukan dalam arteri

dalam jumlah yang terlalu rendah untuk merangsang sekresi lambung.

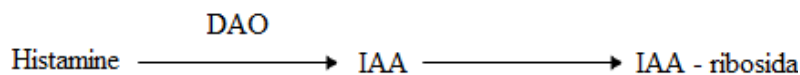
Watanabe dan Wada (1991) menyatakan bahwa enzim yang termasuk dalam metabolisme histamin ialah: histidin dekarboksilase, histamin N-metiltransferase, monoamine oksidase B, dan aldehyd dehydrogenase dan reduktase. Pada manusia secara umum ada 2 enzim utama yang memetabolisme histamin yaitu diamine oksidase (DAO, histamin) dan histamin N-methyltransferase (HMT). Keduanya ditemukan dalam jaringan mamalia. Kebanyakan histamin diubah oleh peran dari hasil penguraian kedua enzim di atas (Ragelis, 1984; Sjamsudin dan Dewoto *dalam* Ganiswarna *dkk.*, 1995).

Selanjutnya ditemukan oleh Ragelis (1984), enzim histamin N-methyltransferase mengurai histamin menjadi N^t-methylhistamin (N^t-MH) dengan bantuan enzim monoamine oksidase dihasilkan N^t-methyl imidazole acetic acid (N^t-MIAA) sebagai berikut:



Enzim Diamine Oksidase mengurai histamin menjadi Imidazol Acetic Acid (IAA) dan terurai lagi menjadi

Imidazole Acetic Acid ribosida (IAA-ribosida) sebagai berikut:



5.1.4 Pembentukan Histamin Pada Ikan

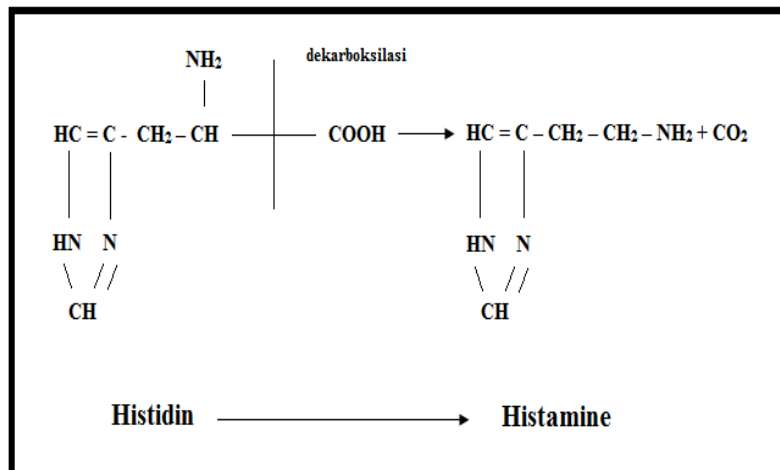
Histidin adalah suatu asam amino yang merupakan prekursor pembentuk histamin. Ada dua macam histidin dalam daging ikan, yaitu histidin bebas dan histidin terikat dalam protein. Histidin bebas yang terdapat dalam daging ikan erat sekali hubungannya dengan terbentuknya histamin dalam daging. Histidin bebas umumnya dihasilkan dari degradasi protein pada saat ikan mengalami pembusukan (Winarno, 1993; Frank *dkk.*, 1984 *dalam* Lohoo, 2003).

Histidin adalah asam amino yang terdapat pada protein yang termasuk dalam konfigurasi L dan memiliki gugus R yang bermuatan negatif (Girindra, 1990). Lebih lanjut dijelaskan bahwa beberapa reaksi kimia yang penting dari asam amino disebabkan oleh adanya gugus karboksil dan gugus amino yang dikandungnya. Gugus α -karboksil dari asam amino histidin mengalami reaksi dekarboksilasi sehingga membentuk histamin.

Menurut Taylor *dkk.*, (1978), histamin dapat dihasilkan melalui proses dekarboksilasi (pemotongan gugus karboksil) asam amino histidin yang dikatalisis oleh enzim histidin dekarboksilase yang dihasilkan oleh ikan itu sendiri (proses autolisis) dan dapat juga dihasilkan melalui proses dekarboksilasi asam amino histidin yang dikatalisis oleh enzim histidin dekarboksilase yang dihasilkan oleh bakteri (proses pembusukan). Dan menurut Ishida (2002), pembentukan histamin akan terus meningkat selama enzim tersebut masih aktif.

Lebih khusus dijelaskan oleh Watanabe dan Wada (1991) bahwa histamin dihasilkan melalui proses dekarboksilasi asam amino L-histidin yang dikatalisis oleh enzim histidin dekarboksilase (HDC, L-histidin dekarboksilase, EC 4.1.1.22). Histamin dimetabolisasi melalui 2 jalur yaitu: 1) Transmetilasi menjadi N¹-methylhistamin yang dikatalisis oleh histamin N-methyltrasferase (HMT, S-adenosyl – L-methionine: histamin N-methyltrasferase, EC 2.1.1.8) dan 2) Deaminasi oksidatif menjadi imidazol asetaldehid oleh diamin oksidase (diamin : oksigen oksidoreduktase, EC 1.4.3.6, histamin).

Reaksi kimia perubahan histidin menjadi histamin dapat dilihat pada Gambar 5.1 berikut ini.



Gambar 5.1. Reaksi Kimia Perubahan Histidin Menjadi Histamin (sumber : Suwandi *dkk.*, 1989)

Pembentukan histamin dapat pula dipengaruhi oleh factor-faktor seperti suhu dan pH. Kimata dan Kawai (1953) *dalam* Borgstrom (1961) menemukan bahwa produksi histamin dipengaruhi oleh suhu lingkungan dan pH. Kisaran pH optimum untuk untuk produksi histamin pada suhu 35°C yaitu antara 3.5 dan 4.5. Suhu optimum untuk pembentukannya adalah 27 – 28°C. Sikorski (1990d) juga menambahkan bahwa suhu optimum akumulasi histamin pada produk perikanan tergantung pada spesies bakteri

pembentuk histamin, namun umumnya berada pada kisaran suhu 20 – 45°C. Pada suhu yang sangat rendah mendekati 32°F (0°C), aktivitas pembentuk histamin dapat ditekan (Igarashi, 1939; Simidu *dkk.*, 1953b *dalam* Borgstrom, 1961).

Selain suhu dan pH, ada juga faktor lain yang dapat mempengaruhi pembentukan histamin yaitu pengawetan dan pengolahan. Menurut Winarno (1993), ada beberapa faktor yang dapat mempengaruhi pembentukan histamin antara lain peng-es-an (*icing*), pembentukan, *thawing*, *pre-cooking*, pendinginan dan proses sterilisasi.

5.2. Metode Penentuan

5.2.1 Metode Ortho-Ptalatdikarboksilaldehid (OPT)

1. Pembuatan Media

Dalam pengujian kadar histamin diperlukan beberapa bahan kimia yang akan digunakan untuk direaksikan dengan sampel. Selain itu ada pula bahan-bahan kimia yang digunakan untuk membuat larutan histamin standar. Prosedur pembuatan bahan-bahan kimia tersebut adalah sebagai berikut.

a. Pembuatan Bahan-bahan Kimia

- Larutan Ortho-ptalaldikarboksilaldehid (OPT) 0,1%
Ditimbang $\pm 0,1\%$ f OPT kemudian dilarutkan dalam 100 ml methanol. Larutan OPT 0,1% disimpan dalam botol amber pada refrigerator. Larutan segar harus disiapkan setiap minggu.
- Larutan NaOH 1 N
Ditimbang ± 4 g NaOH (dalam Beaker glass 50 ml) kemudian dilarutkan dengan aquades, aduk hingga larut semua. Larutan dituang dalam labu takar 100 ml, lalu Beaker glass dibilas dengan aquades. Air bilasan dituang ke dalam labu takar sampai batas volume tepat 100 ml.
- Larutan NaOH 2 N
Ditimbang ± 8 g NaOH (dalam Beaker glass 50 ml) kemudian dilarutkan dengan aquades, aduk hingga larut semua. Larutan dituang dalam labu takar 100 ml, lalu beaker glass dibilas dengan aquades. Air bilasan dituang ke dalam labu takar sampai batas volume tepat 100 ml.

- Larutan HCL 1 N
Dipipet 8 ml HCL, kemudian dituang ke dalam labu takar 100 ml. Larutan diencerkan dengan menambahkan aquades sampai batas volume tepat 100 ml.
- Larutan HCL 0,1 N
Larutan HCL 1 N dipipet sebanyak 50 ml, kemudian dituang ke dalam labu takar 100 ml. Larutan diencerkan dengan menambahkan aquades sampai batas volume tepat 100 ml.
- Larutan Asam fosfat (H_3PO_4) 3,57 N
Larutan H_3PO_4 85% dipipet sebanyak 12,18 ml lalu dituang dalam labu takar 100 ml. Larutan diencerkan dengan menambahkan methanol sampai batas volume tepat 100 ml.

Penimbangan terhadap zat-zat kimia yang akan dipakai, haruslah dilakukan seteliti mungkin. Untuk itu dapat digunakan timbangan analitik yang memiliki ketelitian 0,0000. Misalnya untuk menimbang ± 4 g NaOH. Tambahkan NaOH sedikit demi sedikit sambil melihat nilai yang tertera pada display timbangan. Usahakan agar nilai berat zat tersebut

tepat 4,0000 g. Demikian halnya dengan zat-zat yang ditambahkan untuk pengenceran, misalnya HCL atau aquades. Zat-zat tersebut harus dipipet dengan tepat dan teliti. Untuk mempermudah pengambilan zat kimia cair secara tepat dapat digunakan pipet volumetrik sesuai dengan ukuran yang diinginkan (1 ml, 2 ml, 3 ml, 5 ml, dst). Hal ini perlu diperhatikan karena jumlah zat yang digunakan akan berpengaruh terhadap hasil bacaan tadi.

Selain itu bahan-bahan kimia yang akan direaksikan dengan sampel harus berada dalam kondisi segar. Caranya yaitu dengan membuat ulang bahan-bahan kimia tersebut setiap seminggu sekali. Pemakaian bahan kimia yang sudah lama akan memberikan pengaruh terhadap hasil pengujian sampel, dimana hasil yang diperoleh akan menyimpang dari nilai yang diharapkan (kurang akurat).

b. Pembuatan Histamin Standar

- Larutan Histamin Stock

Ditimbang $\pm 0,0845$ g Histamin dihidroklorida (dalam beaker glass 50 ml), lalu dipindahkan ke

dalam beaker glass 100 ml dan dilarutkan dengan menambahkan 50 ml HCL 0,1 N.

- Larutan Perantara

Dipipet 1 ml larutan histamin stok ke dalam labu takar 100 ml. Larutan diencerkan dengan menambahkan HCL 0,1 N sampai batas volume tepat 100 ml.

- Larutan Standar Histamin 0,1

Dipipet 1 ml larutan histamin perantara ke dalam labu takar 100 ml. Larutan diencerkan dengan menambahkan HCL 0,1 N sampai batas volume tepat 100 ml.

- Larutan Standar Histamin 0,2

Dipipet 2 ml dari larutan perantara ke dalam labu takar 100 ml. Larutan diencerkan dengan menambahkan HCL 0,1 N sampai batas volume tepat 100 ml.

- Larutan Standar Histamin 0,3

Dipipet 3 ml dari larutan perantara ke dalam labu takar 100 ml. Larutan diencerkan dengan menambahkan HCL 0,1 N sampai batas volume tepat 100 ml.

Untuk mengambil zat/larutan dengan volume tepat (1 ml, 2 ml, 3 ml) dapat digunakan pipet volumetrik untuk ukuran 1 ml, 2 ml dan 3 ml. Seperti halnya dengan bahan-bahan kimia yang direaksikan dengan sampel, larutan histamin, stok dan larutan perantara juga harus berada dalam kondisi yang segar. Caranya sama, yaitu dengan membuat ulang larutan tersebut setiap seminggu sekali.

Sedangkan untuk larutan standar histamin 0,1; 0,2 dan 0,3, harus selalu dibuat setiap kali melakukan pengujian. Larutan standar histamin yang telah dipakai tidak boleh dipakai kembali untuk pengujian yang kedua kali. Ini dilakukan untuk mencegah penyimpangan hasil bacaan sampel yang akan diuji nanti. Karena hasil bacaan sampel sangat bergantung pada hasil bacaan larutan standar histamin yang diuji.

Pembuatan larutan histamin stok sebaiknya menggunakan ukuran (berat) yang telah ditentukan dalam SNI-01-2360-1991 / K₁₅, yaitu 169,1 mg histamin dihidroklorida. Pengurangan berat zat histamin dihidroklorida yang digunakan akan mempengaruhi hasil uji histamin.

2. Prosedur Pengujian Histamin

Pengujian kadar histamin di LPPMHP Provinsi Sulawesi Utara dilakukan berdasarkan standar pengujian yang dibuat oleh Badan Standarisasi Nasional (BSN) yaitu sesuai dengan SNI-01-2360-1991 / K₁₅ tentang penentuan kadar histamin secara spektrofotometri. Adapun prosedur pengujian histamin dengan metode spektrofotometri secara garis besar meliputi :

- Penyiapan sampel
- Penyiapan resin dan kolom resin, dan
- Perlakuan sampel

a. Persiapan sampel

Prosedur persiapan sampel adalah sebagai berikut:

- Sampel (daging ikan) dipotong lalu dicincang sampai halus dengan menggunakan pisau.
- Kemudian sampel ditimbang ± 10 g (dalam beaker glass) dengan menggunakan timbangan analitik.
- Sampel yang telah ditimbang dicampur dengan 50 ml methanol.
- Campuran sampel dengan methanol dihaluskan/dihomogenkan dengan *homogenizer* selama ± 5

menit, dalam kondisi dingin sampai sampel benar-benar homogen.

- Setelah itu homogenant tersebut dituang ke dalam Erlenmeyer 250 ml, lalu dimasukkan ke dalam waterbath dan dipanaskan selama 15 menit pada suhu 60°C
- Setelah 15 menit larutan sampel diangkat dan dibiarkan dingin pada suhu ruang.
- Setelah dingin larutan sampel dipindahkan ke dalam labu takar 100 ml, kemudian bilas Erlenmeyer tersebut dengan methanol dan cairan bilasannya dituang ke dalam labu takar 100 ml lalu ditepatkan sampai volume 100 ml dengan methanol
- Larutan sampel tadi disaring dengan menggunakan kertas saring dan filtratnya ditampung ke dalam Erlenmeyer 125 ml
- Erlenmeyer ditutup dan filtrat sampel tersebut disimpan dalam refrigerator. Sampel siap digunakan untuk uji selanjutnya.

Berdasarkan prosedur di atas sampel dicincang terlebih dahulu sebelum ditimbang. Hal ini

dimaksudkan untuk mempermudah proses penimbangan sebentar, dimana sampel ditimbang sedikit demi sedikit sampai mendapatkan berat yang diinginkan. Selain itu sampel yang sudah dicincang akan lebih cepat dihomogenasi daripada dalam bentuk yang masih berupa potongan.

Selanjutnya sampel dihancurkan sampai halus (homogen) dengan menggunakan homogenizer. Dari prosedur di atas proses homogenasi berlangsung dalam kondisi dingin. Untuk menciptakan kondisi dingin ini, beaker glass yang berisi campuran sampel dan methanol diletakkan dalam beaker glass yang lebih besar ($V = 1 \text{ L}$) yang berisi hancuran es batu. Hal ini dilakukan untuk mencegah kenaikan suhu selama homogenasi berlangsung, dimana peningkatan suhu akan mempercepat pembentukan histamin.

Pemanasan sampel dalam waterbath bertujuan untuk melarutkan sampel. Setelah pemanasan dalam jangka waktu yang telah ditentukan, sampel diangkat dan dibiarkan dingin lalu kemudian disaring. Maksud dari penyaringan ini yaitu untuk mendapatkan filtrat sampel. Filtrat sampel yang didapat bisa langsung

diuji atau kalau tidak dapat disimpan dalam refrigerator.

b. Penyiapan Resin dan Kolom Resin

Prosedur penyiapan resin adalah sebagai berikut:

- Ditimbang ± 3 g (dalam beaker glass) resin penukar ion Dowex 1-x8 50 – 100 dry mesh (takaran untuk 1 koloni resin).
- Kemudian resin dicampur dengan 15 ml NaOH 2 N lalu diaduk dengan menggoyangkan secara memutar dan didiamkan selama 30 menit.
- Setelah itu resin dicuci dengan H₂O melalui kertas saring sebanyak 2 – 3 kali.
- Resin siap digunakan untuk pengujian.

Prosedur penyiapan kolom resin adalah sebagai berikut :

- Kalim penjepit kolom resin pada statip penyangga dipasang sedemikian agar posisi kolom resin tetap vertikal.
- Pada bagian dasar kolom resin, dimasukkan glasswool setinggi $\pm 1,5$ cm.
- Resin yang sudah dicuci dimasukkan ke dalam kolom resin dan tambahkan aquades. Volume air

yang ada diatas resin harus tetap dipertahankan (± 1 cm), jangan dibiarkan kering.

- Pada bagian bawah kolm resin, diletakkan labu takar 50 ml yang berisi 5 ml HCL 1 N sebagai penampung. Selang kolom dimasukkan ke dalam labu takar tersebut.

Pengujian histamin secara spektrofotometri menggunakan resin penukar ion Dowex 1-x8 50 - 100 dry mesh. Tujuan perendaman resin dengan NaOH 2 N yaitu untuk mengkonversikan resin ke bentuk -OH. Setelah itu resin dicuci dengan aquades untuk membersihkannya dari kotoran yang mungkin terikat di dalamnya. Glasswool yang dipasang pada bagian dasar kolm berfungsi sebagai penyaring.

Pada tahap penyiapan kolom, resin yang diisi harus dijaga agar tidak berada dalam kondisi kering. Dengan selalu mempertahankan volume air yang ada di atasnya. Perlu diperhatikan bahwa resin yang telah digunakan sekali jangan dipakai lagi untuk pengujian yang kedua kali, karena hal ini bisa mengurangi efektifitas dari resin.

c. Perlakuan Sampel

Prosedur perlakuan sampel uji histamin adalah sebagai berikut:

- Filtrat sampel dipipet secara volumetrik sebanyak 1 ml lalu dilewatkan ke dalam kolom resin (elusi).
- Kemudian ditambahkan 5 ml aquades dan seketika aliran kolom dibuka. Eluat ditampung dalam labu takar 50 ml yang telah berisi 5 ml HCL 1 N.
- Pada waktu tinggi cairan sekitar 2 cm di atas resin, tambahkan 5 ml aquades dan cairan dibiarkan berelusi. Aquades dapat ditambahkan dengan volume yang lebih banyak sehingga eluen yang menetes tepat 50 ml pada labu takar.
- Setelah cairan pada labu takar telah mencapai volume tepat 50 ml, selang kolom resin segera dikunci. Eluen tersebut dipindahkan lalu ditutup.
- Untuk perlakuan selanjutnya disiapkan tabung reaksi masing-masing satu untuk: sampel, larutan blanko, larutan histamin standar 0,1, larutan histamin standar 0,2 dan larutan histamin standar 0,3.

Pada tabung reaksi sampel dimasukkan :

- 5 ml sampel
 - 10 ml HCL 0,1 N, lalu dikocok
 - 3 ml NaOH 1 N, kocok dan biarkan selama 5 menit
 - 1 ml larutan OPT, kocok dan biarkan selama 4 menit
 - 3 ml H₃PO₄ 3,57 N
- Pada tabung reaksi blanko dimasukkan:
- 15 ml HCL 0,1
 - 3 ml NaOH 1 N, kocok dan biarkan selama 5 menit
 - 1 ml larutan OPT, kocok dan biarkan selama 4 menit
 - 3 ml H₃PO₄ 3,57 N
- Pada tabung reaksi standar masing-masing dimasukkan:
- 5 ml larutan standar histamin (0,1 ; 0,2 dan 0,3)
 - 3 ml NaOH 1 N, kocok dan biarkan selama 5 menit
 - 1 ml larutan OPT, kocok dan biarkan selama 4 menit
 - 3 ml H₃PO₄ 3,57 N

- Masing-masing larutan dalam tabung reaksi dibagi ke dalam kuvet-kuvet. Sampel siap dibaca dengan alat spektrofotometer.

Pada waktu cairan berelusi di dalam kolom, diusahakan agar cairan yang menetes kira-kira 8 tetes per menit. Aquades harus selalu ditambahkan ke dalam kolom sehingga kondisinya tidak kering. Bila kondisinya kering maka cairan yang berelusi juga akan lambat. Pada saat berelusi, zat-zat histamin dalam filtrat sampel dikonversikan ke dalam bentuk-OH kemudian diisolasi dengan resin penukar ion. Eluen yang terbentuk ditampung dalam labu takar 50 ml yang telah beris HCL 1 N.

Perlakuan selanjutnya adalah mencampurkan eluen dengan bahan-bahan kimia untuk mendapatkan senyawa yang berfluoresens. Dalam tabung reaksi ditambahkan senyawa kimia OPT 0,1% yang bertujuan untuk mengubah zat-zat histamin dalam contoh ke bentuk derivatnya. Selanjutnya larutan ke dalam kuvet-kuvet jangan sampai penuh, cukup tiga perempat bagian dari isi kuvet itu. Ini dilakukan agar larutan tidak tumpah pada saat dimasukkan ke dalam

spektrofluometer. Setelah itu larutan siap untuk dibaca dengan spektrofiorometer.

5.2.2 Metoda TLC (Lieber dan Taylor, 1978)

Pengamatan dan pengukuran di Laboratorium dalam penelitian ini dilaksanakan dengan uji TLC (*Thin Layer Chromathography*). (Lieber dan Taylor, 1978) dengan prosedur kerja sebagai berikut :

1. Ekstraksi

- 1) 2 g daging sampel dari dua individu ikan pada spesies yang sama ditimbang dan dimasukkan dalam methanol 20 ml kemudian diblender.
- 2) Larutan ekstraksi ditampung dalam Erlenmeyer lalu ditutup rapat dengan plastik bening (diikat dengan karet gelang).
- 3) Larutan dalam Erlenmeyer dikocok pada shaker selama 30 menit kemudian didiamkan sampai terbentuk larutan bening yang terpisah dari endapan.
- 3) Selanjutnya larutan bening yang terbentuk dipisahkan dari endapannya dengan menggunakan kertas saring whatman.
- 4) Larutan beningnya dimasukkan dalam erlenmeyer dan ditutup rapat, yang digunakan sebagai sampel.

2. Penotolan

- 1) Pelat berukuran 20 x 20 cm yang sudah tersedia diberi tanda sebagai berikut:
 - Garis horizontal pada no. 10.
 - Di atas garis pembatas diberi nomor 1 – 10, dibantu mistar pelat dan pensil yang memiliki 11 bagian.
- 2) Penotolan dilakukan dengan memipet ekstrak 5 mikro liter untuk satu totolan dengan menggunakan pipet kapiler 5 mikro liter. Sebagai contoh, ekstrak ditotol sebanyak 12 totol dengan jarak 1,5 cm.
- 3) Penotolan diusahakan tidak melebar dan setiap penotolan harus dikeringkan dahulu sebelum dilakukan penotolan berikutnya.
- 4) Setiap kali penotolan contoh ekstrak mikro pipet harus diganti.
- 5) Pelat yang sudah ditotoli, sampel siap dimasukkan ke dalam bejana kromatografi.

3. Pencelupan dalam bejana kromatografi

- 1) Bejana dengan eluen methanol : amonia 25% = 20 : 1 disiapkan
- 2) Ruang bejana dibuat jenuh

- 3) Pelat TLC yang sudah diberi sampel dimasukkan dalam bejana lalu ditutup rapat.
- 4) Setelah eluen naik sampai pada garis batas, pelat diangkat dan dikeringkan pada suhu ruang.

4. Deteksi

- 1) Pelat yang sudah kering disemprot dengan ninhidrin 0,1% dengan merata. Setelah itu dikeringkan dengan *dryer* dan akan terbentuk warna violet pada bagian toloan sampel dan standar.
- 2) Untuk memperjelas warnanya maka pelat dimasukkan dalam oven pada suhu 120°C.
- 3) Pelat yang sudah terbentuk warnanya dideteksi dengan TLC scanner yang dihubungkan komputer untuk menentukan nilai kuantitatifnya.

5. Pembuatan Larutan Standar

Larutan standar yang digunakan adalah 100 ppm, dimana dibuat dengan cara:

- 1) Timbang standar (histidin atau histamin) sebanyak 0,01 g.
- 2) Masukkan 0,01 g standar tersebut dalam methanol 100 ml, hingga larutan tersebut menjadi 100 ppm.

5.3. Hasil-Hasil Penelitian

5.3.1 Kadar Histamin Pada Ikan Cakalang dan Ikan Layang Yang Direndam Pada Air Kelapa (Wonggo, D., S. Berhimpon, IK. Suwetja dan F. Rungkat-Z., 1995)

Tabel 5.4. Kadar Histamin Pada Ikan Cakalang dan Ikan Layang Yang Direndam Pada Air Kelapa Selama 15 Menit

Bahan Perendam	Lama Perendaman (menit)	Kadar Histamin (mg %)		
		Ikan Ckalang		Ikan Layang
		Lapisan		
		I	II	
Aquades	0	26,92	26,92	37,49
	5	30,77	32,69	41,34
	10	35,57	38,46	53,84
	15	42,31	47,11	53,84
Air Kelapa A	0	26,92	26,92	37,49
	5	19,23	19,23	17,31
	10	16,34	17,31	14,42
Air Kelapa B	15	13,46	15,38	12,50
	0	27,88	26,92	34,61
	5	21,15	23,10	18,27
Daging yang dibiarkan tidak di rendam	10	18,27	21,15	15,38
	15	14,42	18,27	13,46
	0	26,92	25,96	34,61
	5	21,15	23,10	41,34
	10	32,69	36,70	50,96
	15	41,34	49,04	53,84

Data tersebut menunjukkan bahwa pada daging ikan Cakalang kadar histamin tertinggi adalah 49,04 mg%, pada lapisan II dari daging ikan yang tidak direndam. Sedangkan untuk daging ikan layang adalah 53,84 mg% untuk daging

yang direndam dengan aquades, masing-masing pada perendaman selama 15 menit. Kadar histamin terendah adalah 13,46 mg% pada daging ikan cakalang pada lapisan I dan 12,5 mg% pada daging ikan layang, masing-masing pada lama perendaman selama 15 menit untuk air kelapa A. Grafik hubungan antara lama perendaman dan jenis bahan perendam terhadap kadar histamin daging ikan dapat dilihat pada Gambar 6.4 dan 6.5.

Air kelapa dapat menurunkan kadar histamin dari daging ikan Cakalang dan ikan Layang. Daging ikan yang dibiarkan tidak direndam dan yang direndam dalam aquades mengalami peningkatan kadar histamin. Lama perendaman memberikan pengaruh yang tidak nyata terhadap kadar histamin ikan Cakalang karena pada daging ikan Cakalang yang dibiarkan tidak direndam dan direndam dengan aquades, makin lama direndam makin tinggi kadar histamin, sedangkan untuk yang direndam pada air kelapa makin lama direndam, makin menurun kadar histamin, dimana penurunan cenderung seimbang.

Menurut persyaratan mutu yang dikeluarkan oleh Standar Nasional Indonesia (SNI 01-2360-1991), bahwa kandungan zat-zat histamin atau yang ditentukan sebagai

histamin yang lebih besar dari 15 mg% dapat diperhitungkan sebagai gejala awal kerusakan. Kandungan yang lebih besar atau sama dengan 50 mg% sudah sangat berbahaya bagi kesehatan, dan untuk kandungan 100 mg% dapat menyebabkan konsumen harus mendapat perawatan khusus. Tabel 6.5 menunjukkan bahwa daging ikan yang dibiarkan tidak direndam dan direndam dengan aquades, kadar histaminnya sudah 41,34 mg% dan 42,31 mg% sedangkan yang direndam dengan kedua jenis air kelapa pada lapisan I kadar histaminnya turun menjadi 13,46 mg% dan 14,32 mg% sedangkan untuk lapisan II masih 15,38 mg% dan 18,27 mg%. Hal ini menunjukkan ketebalan lapisan memberikan pengaruh pada penurunan histamin khususnya pada perendaman dengan air kelapa. Tabel 6.5 menunjukkan bahwa daging ikan layang yang dibiarkan tidak direndam dalam aquades, kadar histaminnya sudah mencapai 53,84 mg% sedangkan yang direndam dalam air kelapa A dan B masing-masing turun sehingga 12,50 mg% dan 13,46 mg%.

Dari data di atas dapat disimpulkan bahwa perendaman daging ikan ke dalam air kelapa A maupun B dapat mengurangi kadar histamin sehingga ikan tersebut menjadi aman untuk dikonsumsi.

Penurunan kadar histamin dalam jaringan daging ikan ini diduga disebabkan karena terjadi difusi sehingga histamin dari daging ikan keluar dari daging ikan ke bahan perendam. Hal ini terjadi karena perbedaan konsentrasi histamin antara daging ikan dan bahan perendam. Kemungkinan yang lain yaitu bakteri yang memproduksi enzim dekarboksilase menjadi pasif sehingga produksi histamin terhenti. Mandang (1993) menyatakan bahwa unsur K dan vitamin yang terkandung dalam air kelapa berfungsi sebagai aktifator dalam reaksi enzimatik. Apabila pada proses perendaman ini mineral dan vitamin juga mempunyai peranan dalam mengaktifkan enzim, maka kemungkinan enzim histaminase yang berperan dalam proses meliliasi histamin dan diaminase oksidatif akan menjadi aktif. Dengan demikian hal ini dapat juga menyebabkan berkurangnya histamin dalam daging ikan.

5.3.2 Kadar Histamin dan Hubungannya Dengan Total Koloni *Proteus* dan Total Koloni *Pseudomonas* Ikan Tongkol Dengan Penyimpanan Suhu Es (Damongilala, L., S. Berhimon, IK. Suwetja dan I. Rumengan, 1999)

Data kandungan histamin, total koloni *Proteus* dan total koloni *Pseudomonas* daging ikan Tongkol yang

disimpan dalam kondisi suhu es selama percobaan, dapat dilihat pada Tabel 5.5.

Tabel 5.5. Kandungan histamin, *Proteus* dan *Pseudomonas* ikan tongkol yang disimpan pada suhu es

Waktu (hari)	Histamin (mg/100g)	Total <i>Proteus</i> (Log koloni/g)	Total <i>Pseudomonas</i> (Log koloni/g)
0	16,90	0	0
1	20,74	2,90	0
2	19,90	3,84	2,39
4	20,32	3,98	2,30
6	26,53	4,24	3,08
8	19,20	5,09	3,16

Kandungan histamin ikan Tongkol segar pada awal percobaan ialah 16,90 mg/100 g. Nilai ini hampir sama dengan kandungan histamin ikan tongkol yaitu antara 16,84 – 18,90 mg/100 g seperti yang dilaporkan oleh Ma'ruf *dkk.* (1990).

Dari data di atas terlihat bahwa pada kondisi suhu es, kandungan histamin tertinggi sebesar 26,53 mg/100 g pada hari ke-6. Kandungan histamin tersebut walaupun belum termasuk membahayakan bagi kesehatan konsumen. Tetapi nilai ini sudah melebihi 20 mg/100 g, yang menunjukkan adanya indikasi penanganan yang tidak higienis setelah ikan ditangkap.

Untuk mengetahui apakah terdapat hubungan linear antara kandungan histamin dengan lama waktu penyimpanan. Dilakukan analisis regresi dan korelasi. Persamaan regresinya ialah $\text{Histamin} = 18,99 + 0,46 \text{ hari}$, dengan koefisien korelasi $r = 0,37$ ($r^2 = 20,0\%$). Dari pengujian terhadap persamaan regresi tersebut, ternyata tidak signifikan ($P > 0,05$); ini juga ditunjukkan oleh kecilnya nilai koefisien determinasi nilai (r^2) sebesar 20%, yang berarti bahwa kemampuan lama penyimpanan (hari) untuk menjelaskan kandungan histamin ikan tongkol hanya sebesar 20,0%, sedangkan 80% ditentukan faktor lain. Hal ini berarti bahwa kandungan histamin pada ikan tongkol, tidak dapat diprediksi hanya berdasarkan jumlah hari percobaan 8 hari saja.

Total koloni *Proteus* sp pada kondisi suhu es ada kecenderungan meningkat dengan bertambahnya waktu. Nilai terbesar terdapat pada hari terakhir (hari ke-8) yaitu sebesar $1,25 \times 10^5$ koloni. Nilai ini masih lebih rendah dibandingkan nilai standar total koloni bakteri bagi produk perikanan yang masih layak dikonsumsi, yaitu sebesar 5×10^5 koloni. Nilai kandungan bakteri pembentuk histamin sebesar $2,4 - 2,8 \times 10^4$ koloni pada ikan tongkol segar, juga pernah dilaporkan oleh Atmadjaja *et. al.* (1995).

Hasil analisis regresi antara total *Proteus* dengan waktu pengamatan, didapatkan persamaan **Log Proteus = 1,68 + 0,47 Hari** dan menunjukkan hubungan linear yang signifikan ($P < 0,05$) dengan koefisien korelasi $r = 0,82$ ($r^2 = 67,2\%$). Hal ini berarti bahwa total koloni *Proteus* dapat diprediksi dengan baik berdasarkan lamanya waktu penyimpanan.

Kandungan histamin semakin bertambah dengan bertambahnya koloni *Proteus*, kecuali pada hari ke-2 dan ke-8 bertambahnya koloni *Proteus* diiringi dengan berkurangnya kandungan histamin. Pada pertumbuhan *Proteus* selama 8 hari terlihat masih pada fase akselerasi dan seterusnya cenderung meningkat. Pada hari ke-6 kandungan histamin meningkat cukup tinggi, kemungkinan disebabkan enzim yang dikeluarkan bakteri *Proteus* mulai aktif mengurai histidin menjadi histamin, sedangkan pada hari ke-8, histamin menurun secara drastis dengan bertambahnya koloni *Proteus*. Penurunan histamin dari hari ke-6 sampai hari ke-8 (dari 26,53 mg/100 g menjadi 19,20 mg/100 g) disebabkan karena bertambahnya kerusakan daging ikan akibat meningkatnya dekomposisi oleh bakteri. Walaupun histamin sebenarnya hampir tidak terbentuk pada suhu es,

kandungan histamin yang ada bisa saja karena penanganan yang tidak higienis setelah ikan ditangkap.

Secara keseluruhan, tidak terdapat korelasi yang signifikan ($r = 0,516$) antara kandungan histamin dengan total koloni *Proteus* ($P > 0,05$). Berkurangnya histamin, dapat saja disebabkan karena mulai meningkatnya koloni bakteri *Pseudomonas*, yang berperan dalam penguraian histamin. Ragelis (1984), menyatakan bahwa penguraian histamin menghasilkan senyawa-senyawa *imidazolacetic-acid*, yang dapat menurunkan jumlah histamin pada ikan. Selain itu, kondisi suhu es kurang sesuai dengan lingkungan pertumbuhan bakteri *Proteus*, karena kondisi optimal untuk pertumbuhan *Proteus*, ialah pada daerah mesofilik ($20 - 25^{\circ}\text{C}$), dengan pH berkisar $6 - 7$ (Sato *et. al.*, 1984; Atmadjaja *et. al.*, 1995). Hal ini juga ditunjang dengan pengujian TVB, yaitu semakin lama nilai TVB semakin tinggi. Menurunnya kandungan histamin bisa saja hanya bersifat sementara dan akan meningkat lagi seiring dengan bertambahnya *Proteus* dan lama penyimpanan.

Pseudomonas belum ditemukan selama hari pertama penyimpanan dan untuk hari selanjutnya ada kecenderungan meningkat dengan bertambahnya waktu. Walau bakteri

psikrofil berkembang pada suhu rendah, tetapi kebanyakan perkembangannya terjadi setelah beberapa hari (sekitar 7 hari) (Hadiwiyoto, 1993). Nilai terbesar *Pseudomonas* terdapat pada hari terakhir (hari ke-8) yaitu sebesar $1,45 \times 10^3$ koloni. Nilai ini masih tergolong aman untuk kebutuhan konsumsi.

Dari analisis regresi diperoleh persamaan **Log *Pseudomonas* = 0,39 + 0,41 hari** dan menunjukkan hubungan linear yang signifikan ($P < 0,05$), dengan koefisien korelasi $r = 0,87$ ($r^2 = 75,7 \%$). Hal ini berarti bahwa total koloni *Pseudomonas*, dapat diprediksi berdasarkan lamanya waktu penyimpanan.

Dari Gambar 5.6 terlihat pula bahwa koloni *Pseudomonas* baru ditemukan pada pengamatan hari ke-2 dan seterusnya semakin meningkat, kecuali pada hari ke-4. Peningkatan kandungan histamin antara hari ke-4 sampai ke-6, kemungkinan terjadi karena enzim yang dikeluarkan oleh *Pseudomonas* belum bekerja secara optimal dan masih terakumulasi dalam jaringan ikan. Akibatnya pada interval waktu tersebut histamin belum terombak. Untuk hari selanjutnya terjadi penurunan histamin. Mulai hari ke-1 sampai hari ke-6 kandungan histamin bertambah atau berkurang sesuai dengan pertumbuhan dan aktivitas koloni

Pseudomonas. Selanjutnya pada hari terakhir (ke-8), kandungan histamin menurun secara drastis dengan bertambahnya koloni *Pseudomonas*. Penurunan ini sejalan dengan meningkatnya jumlah koloni *Pseudomonas* yang berfungsi sebagai pengurai histamin. Menurunnya kandungan histamin pada hari ke-8 kemungkinan disebabkan oleh terhambatnya pertumbuhan bakteri pembentuk histamin, karena kondisi suhu es tidak sesuai dengan lingkungan pertumbuhannya (Fujii *et. al.*, 1994; Atmadjaja *et. al.*, 1995). Selain itu penguraian histamin menghasilkan senyawa imidazol yang bisa menurunkan jumlah histamin (Ragelis, 1984).

5.3.3 Kadar Histamin Pada Ikan Tuna dan Ikan Cakalang Selama 10 Hari Penyimpanan Dalam Es (Waskita, P. dan IK. Suwetja, 2000)

Peningkatan kadar histamin secara drastis pada ikan tuna Madidihang mulai terjadi pada hari ke-6 yaitu 79,76 mg/100 g dan hari ke-8 sebesar 101,84 mg/100 g sampel. Sedangkan untuk ikan Cakalang, peningkatan kadar histamin mulai terjadi pada hari ke-4 dimana kandungan histaminnya 106,65 mg/100 g sampel, seperti terlihat pada Gambar 5.7 berikut.

Peningkatan kadar histamin baik pada ikan tuna Madidihang maupun Cakalang seiring dengan terjadinya perubahan organoleptik dari ikan, dimana teksturnya mulai lembek, matanya mulai berlendir dan tulang mudah dipisahkan dengan dagingnya pada hari ke-6.

Dari gambat terlihat untuk ikan Tuna Madidihang sampai hari ke-4 kandungan histaminnya adalah sebesar 31,39 mg/100 g sampel, sedangkan untuk ikan Cakalang pada hari ke-4 sudah mencapai 61,56 mg/100 g sampel, Veciana-Nogues *et. al.* (1989). Standar kadar maksimum histamin yang dapat ditolerir oleh konsumen terhadap produk ikan bervariasi antara 10 – 100 mg/100 g produk. Selanjutnya Taylor (1988) menyatakan bahwa histamine menimbulkan masalah apabila levelnya mendekati 50 mg/100 g daging pada ikan atau bahan makanan lain. Ini berarti bahwa untuk ikan tuna yang disimpan pada es hancuran setelah hari ke-4 relatif sudah tidak aman lagi untuk dikonsumsi. Sedangkan untuk ikan Cakalang mulai dari hari ke-4 sampai dengan ke-10. Dilihat dari kandungan histaminnya sudah tidak aman lagi untuk dikonsumsi. Namun demikian keracunan yang ditimbulkan oleh histamin pada waktu

mengonsumsi ikan sangatlah tergantung pada daya tahan tubuh yang mengkonsumsinya.

5.3.4 Hasil Pengujian Histamin Pada Lab. Pembinaan dan Pengujian Mutu Hasil Perikanan (LPPMHP) Prop. Sulawesi Utara (2004)

Tabel 5.6. Hasil Uji Histamin Pada Beberapa Jenis Produk Komoditi Ikan (PPM)

Tanggal Uji	Jenis Produk	Hasil Uji
18 mei 2004	Tuna Steak Beku	0,692
	Tuna Segar	7,568
19 mei 2004	Tuna Loin Segar	1,795
26 mei 2004	Tuna Poke Cubes Beku	5,088
	Tuna Beku Final Cutting	5,829
	Tuna Slice Beku	6,336
	Tuna Loin Beku	6,171
27 mei 2004	Ikan Kaleng Cakalang	1,090
	Ikan Kaleng Tuna	0,185
7 juni 2004	Tuna Steak Beku	0,570
10 juni 2004	Tuna Loin Segar	1,980
14 juni 2004	Tuna Steak Beku	5,271

5.3.5 Kadar Histamin Ikan Layang Yang Disimpan Selama 20 Hari Pada Es Rumput Laut (Serpara, S., IK. Suwetja, S. Berhimpon dan R. Montolalu, 2013)

Hasil analisis kandungan histamin ikan Layang selama penyimpanan dingin, seperti terlihat pada Tabel 5.7,

menunjukkan bahwa kandungan histamin dengan perlakuan konsentrasi es ekstrak rumput laut 75% memiliki nilai lebih rendah dibandingkan dengan perlakuan konsentrasi es ekstrak rumput laut 50, 25 dan 0%. Kandungan histamin meningkat selama 5 hari penyimpanan, kemudian menurun sampai 20 hari penyimpanan.

Tabel 5.7. Hasil Perhitungan Nilai Histamin

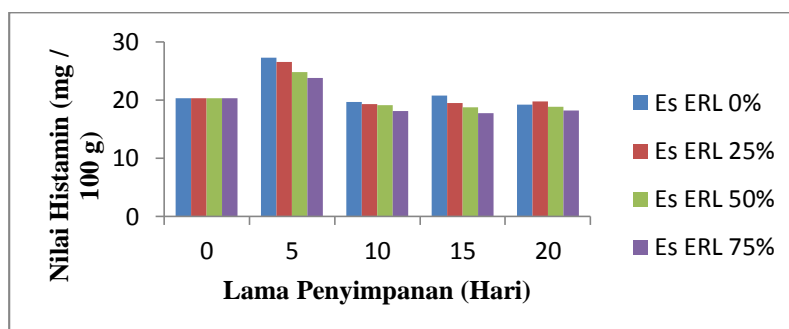
NILAI RATA – RATA HISTAMIN							
Jenis ES (A)	Lama Pengesan (B) Hari					Total	Rata-rata
	0	5	10	15	20		
Es ERL 75% (A1)	20,32	23,82	18,15	17,78	18,24	98,31	19,66
Es ERL 50% (A2)	20,32	24,77	19,11	18,72	18,86	101,78	20,36
Es ERL 25% (A3)	20,32	26,50	19,29	19,47	19,79	105,37	21,07
Es ERL 0% (A4)	20,32	27,28	19,70	20,80	19,25	107,35	21,47
Total	81,28	102,37	76,25	76,77	76,14	412,81	82,562
Rata - rata	20,32	25,59	19,06	19,19	19,035	103,2025	20,6405

Hasil perhitungan kadar histamin terhadap ikan yang diberi perlakuan pengesan dengan perbedaan jenis es dan lama penyimpanan dapat dilihat pada tabel 6.7. Jumlah kadar histamin tertinggi pada hari ke-5 pada perlakuan es ekstrak rumput laut 75% selama 15 hari yaitu 17,78 mg/100 g daging ikan.

Histogram perlakuan es dan lama penyimpanan terhadap jumlah kadar histamin dilihat pada Gambar 5.8. Gambar tersebut memperlihatkan bahwa selama waktu

penyimpanan terjadi peningkatan dan penurunan kadar histamin ikan layang dengan perlakuan es ekstrak rumput laut 75%, 50%, 25% dan 0%.

Dimana pada 0 hari, nilai histamin untuk semua perlakuan yaitu 20,32 mg/100 g daging ikan. Setelah memasuki hari ke-5, nilai histamin untuk perlakuan es ekstrak rumput laut 75% naik menjadi 23,82 mg/100 g, hari ke-10 menjadi 18,15 mg/100 g, hari ke-15 menjadi 17,78 mg/100 g, hari ke-20 menjadi 18,24 mg/100 g. Nilai histamin yang diberi perlakuan es ekstrak rumput laut 25% pada hari ke-5 naik menjadi 26,50 mg/100 g, hari ke-10 menjadi 19,29 mg/100 g, hari ke-15 menjadi 19,47 mg/100 g, dan hari ke-20 menjadi 19,79 mg/100g. Untuk nilai histamin yang diberi perlakuan es ekstrak rumput laut 0% pada hari ke-5 naik menjadi 27,28 mg/100 g, hari ke-10 menjadi 19,70 mg/100 g, hari ke-15 menjadi 20,80 mg/100 g dan hari ke-20 menjadi 19,25 mg/100 g, lebih jelasnya dapat dilihat pada Gambar 5.2.



Gambar 5.2. Histogram Nilai Histamin Terhadap Lama Penyompanan

Gambar 5.2 menunjukkan bahwa perlakuan es ekstrak rumput laut 75% pada penyimpanan hari ke-15, memiliki kandungan histamin yang lebih rendah dibandingkan dengan perlakuan lainnya. Hal ini berarti semakin tinggi konsentrasi ekstrak rumput laut yang diberikan akan lebih baik, dibandingkan perlakuan lainnya dalam mencegah terjadinya pembentukan histamin pada ikan layang selama penyimpanan.

Menurut Sato *et. al.* (1994) bahwa pH atau derajat keasaman optimal untuk proses dekarboksilase oleh sebagian besar bakteri berkisar antara 5,0 hingga 6,0. Peningkatan kadar histamin disebabkan oleh enzim histidin dekarboksilase dengan mengkatalisis histidin yang dihasilkan oleh bakteri. Ketika enzim histidin dekarboksilase sudah terbentuk maka enzim tersebut akan terus membentuk

histamin walaupun bakterinya sudah tidak aktif (Kimata, 1961). Peningkatan kandungan histamin seiring dengan peningkatan jumlah bakteri (TPC dan total bakteri psikrofilik) yang berperan dalam proses dekarboksilase histidin selama penyimpanan. Wei *et. al.* (1990), menyatakan bahwa beberapa bakteri yang berperan dalam pembentukan histamin antara lain: *Proteus morganii*, *Morganella morganii*, *Hafnia alvei*, *Klebsiella*, *Clostridium perfringens*, *Lactobacillus* sp, *Enterobacter* sp, *Escherichia* sp, *Salmonella* sp, *Aeromonas*, *Pseudomonas*, *Shigella* sp, *Clostridium* sp, *Vibrio* sp dan *Photobacterium* sp. Hal ini sejalan dengan pernyataan (Kanki *et. al.*, 2002; Kimata, 1961; Taylor *et. al.*, 1979; Yoshinaga dan Frank, 1982) bakteri jenis *Clostridium perfringens*, *Enterobacter aerogenes*, *Klebsiella pneumoniae*, *Morganella morganii*, *Proteus mirabilis*, *Raoultella planticola* dan *Vibrio alginolyticus* termasuk dalam golongan bakteri yang menyebabkan histamin terbentuk sampai tingkat membahayakan pada suhu 17 – 30°C bakteri *Morganella psychrotolerant* dan *Photobacterium phosphoreum* dapat memproduksi histamin pada suhu dingin, dimana sebanyak 31% ikan yang disimpan pada suhu -1°C sampai 5°C terdapat histamin sampai kadar

500 ppm (Emborg dan Dalgaard, 2008). Ikan jenis ini mengandung asam amino histidin yang dikontaminasi oleh bakteri dengan mengeluarkan enzim histidin dekarboksilase sehingga menghasilkan histamin. Penurunan kadar histamin menurut Ragelis (1984) disebabkan oleh enzim histamin N-methyltransferase mengurai histamin menjadi N^t methyl histamin (N^t-MH) lalu dengan bantuan enzim monoamine oksidase dihasilkan N^t methyl imidazoleacetic acid (N^t-MIAA). Bilamana dilakukan analisis statistik parametrik dengan model sidik ragam terhadap kandungan histamin ikan Layang (*Decapterus* sp) dari perlakuan yang diterapkan dapat disajikan di Tabel 5.8.

Tabel 5.8. Hasil Analisis Sidik Ragam Nilai Kandungan Histamin Ikan Layang

Sumber Keragaman	JK	db	KT	F _{Hit}	F _{Tabel}	
					0.05	0.01
Konsentrasi Rumput Laut (A)	19.132	3	6.3774	23.67**	3.10	4.94
Lama Penyimpanan (B)	254.934	4	63.7334	236.55**	2.67	4.43
Interaksi AB	10.728	12	0.8940	3.32**	2.28	3.32
Galat	5.389	20	0.2694			
Total	290.180	39				

Ket : ** sangat nyata, * nyata, dan ^{tn} tidak nyata

Berdasarkan hasil analisis sidik ragam terhadap kandungan histamin menunjukkan bahwa perlakuan presentase es ekstrak rumput laut dan lama penyimpanan serta interaksi antara keduanya memberikan pengaruh yang

sangat nyata ($F_{hit} > F_{tab}$). Apabila dilanjutkan dengan uji beda nyata terkecil (BNT), memperlihatkan bahwa perlakuan es ekstrak rumput laut untuk semua perlakuan menunjukkan perbedaan sangat nyata, untuk lama penyimpanan menunjukkan, bahwa penyimpanan hari ke-10, 15 dan 20 tidak ada perbedaan satu dengan lainnya namun memberikan perbedaan sangat nyata pada lama penyimpanan 0,5 hari.

Keracunan yang sering terjadi pada ikan Layang yaitu keracunan histamin (*scombroid fish poisoning*) gejala yang muncul apabila mengkonsumsi ikan dengan kandungan histamin yang berlebih yaitu akan mengakibatkan muntah-muntah, rasa terbakar pada tenggorokan, bibir bengkak, sakit kepala, kejang, mual, muka dan leher kemerah-merahan, gatal-gatal dan badan lemas. Standard Maksimum Residu Limit atau Batas Baku Mutu dari FDA (*Food and Drug Administration*) menetapkan batas pada ikan dan produk perikanan yaitu 20 mg/100 g daging ikan menunjukkan adanya indikasi penanganan yang tidak higienis, sedangkan kandungan histamin 50 mg/100 g daging ikan sudah menyebabkan keracunan (Nasran, 1989).

BAB 6

METODE PENENTUAN KADAR UREA

6.1. Perinsip Penentuan

Ikan cucut telah dikenal oleh masyarakat nelayan di Desa-desa yang berdekatan dengan pantai. Jaring-jaring para nelayan yang dipasang dengan maksud untuk menangkap ikan lain tanpa sengaja dimasuki oleh beberapa jenis ikan cucut. Cucut yang tertangkap siripnya diambil untuk dijual dan dagingnya diawetkan dengan cara dikeringkan, digarami dan diasapi.

Tubuh cucut bernilai komersial tinggi, meliputi kulit, gigi, sirip, hati dan dagingnya. Atas dasar itu, usaha penangkapan cucut telah dijadikan skala yang besar dan juga telah menjadi tujuan hasil tangkapan.

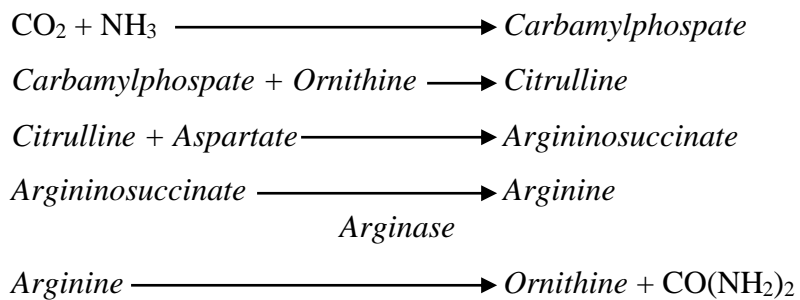
Daging yang merupakan bagian terbesar dari tubuh ikan cucut telah banyak dimanfaatkan terutama untuk penyediaan pangan bagi manusia. Dagingnya diolah menjadi daging asap, daging asin kering, dendeng, abon, sosis dan bakso. Diversifikasi olahan ini terbuka sejak ditemukan beberapa metode yang dapat mengatisipasi jumlah kandungan urea yang ada pada daging cucut.

Metode-metode pengurangan urea yang telah dilakukan diantaranya mengurangi urea dengan merendam dagingnya pada larutan NaCL 10% dan asam asetat 29% selama 30 menit, dimana urea dapat direduksi sebanyak 77% (Berhimpon, 1982), mereduksi kandungan urea daging dengan perlakuan atau perebusan selama 90 menit dimana kadar urea dapat diturunkan sebesar 2,25% dari daging cucut mentah (Yunizal *dkk.*, 1984). Sedangkan Priono *dkk.* (1984) menyatakan bahwa perlakuan dengan air dingin mengalir selama 4 jam dapat mengurangi urea sekitar 50%. Perlakuan ini sama seperti yang dikemukakan oleh Fawzya (1993) yaitu sebelum diolah dagingnya dicuci dengan air dingin mengalir sebanyak 3 – 4 kali masing-masing pencucian selama 15 menit.

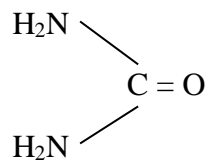
Menurut Lagler *et. al.*, (1977) dalam wahid (1992), golongan ikan bertulang rawan mempunyai kandungan urea yang tinggi, yaitu 2 – 2,25% dari total daging, sedangkan golongan ikan bertulang keras hanya 0,05%.

Urea terbentuk dari amoniak dan karbondioksida melalui serangkaian reaksi kimia yang berupa siklus, yang dinamakan siklus urea (Poedjiadi, 1994). Dan pada ikan-ikan *Elasmobranchii* urea dibentuk di dalam hati yang

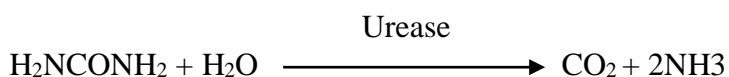
dikatalis oleh enzim arginase (Baldwin, 1985 dalam Borgstrom, 1961), seperti yang ditunjukkan sebagai berikut ini :



Urea merupakan senyawa yang tidak berwarna, yang terurai menjadi biuret dan amoniak oleh adanya panas. Urea mempunyai berat molekul 60,06, titik lebur 135°C, terurai oleh panas dan larut sangat baik dalam air, etil alkohol dan methanol. Larut baik alkohol absolut, asam asetat dan pirimidin, tetapi tidak larut dalam ester dan bensin (Weast, 1976). Urea mempunyai sinonim : karbamida atau karbonil diamida, dengan rumus molekul : H₂NCONH₂. Rumus bangun sebagai berikut :



Menurut Condidine (1976), pada pH netral urea dapat diuraikan oleh enzim urease menjadi CO₂ dan NH₃.



Pemansan pada titik leburnya (135°C) dan tekanan 1 atmosfer, mengakibatkan urea terdekomposisi menjadi NH₃, asam cyanuric (HNCO)₃, biuret (NH₂CONHCONH₂) dan senyawa-senyawa lain.

Kandungan urea yang tinggi pada ikan cucut akan dirombak menjadi basa menguap (terutama amoniak) oleh aktivitas bakteri. Kandungan urea dari berbagai jenis ikan cucut dapat dilihat pada Tabel 6.1.

Tabel 6.1. Kandungan Urea dari Berbagai Jenis Ikan Cucut

Spesies	Kandungan Urea (mg/100 g)
Spiny dog fish (<i>Squalus acanthias</i>)	1570
Blacktip shark (<i>Carcharhinus limbatus</i>)	1728 1775
Lasser spotted deep fish Tiger shark (<i>Galiocerci cuvieri</i>)	1990
Smooth hound (<i>Mustelus mustelus</i>)	2038
Hammerhead (<i>sphyma zygaena</i>)	2320

Sumber : Kreuzer and Ahmed, 1978

6.1.1 Cara-cara Menghilangkan Urea

Kandungan urea dalam daging cucut dapat direduksi dengan perlakuan panas (*blanching*, *baking*, *sterilisasi*), diasamkan (*pickling*), direndam dalam air garam (*soaking*) atau larutan garam (Kreuzer dan Ahmed, 1978).

1. Pencucian Dengan Air Dingin

Priono *dkk* (1987) mencuci daging ikan cucut dengan panjang 1, 2 dan 3 cm dengan air dingin yang mengalir (suhu 8 – 10°C) selama 2 dan 4 jam, dapat mereduksi kandungan urea sebesar 50% (dari kandungan awal sebesar 2,21% direduksi menjadi 1,06 – 1,42%, namun bau urea masih terdeteksi).

Hasil percobaan Astawan (1990) menunjukkan adanya pengaruh yang cukup baik apabila daging ikan cucut jenis lanyam (*C. limbatus*) dan ronggeng (*Sphyma blanchii*) digiling kemudian direndam dan dicuci dengan air dingin bersuhu 5 – 10°C selama 10 menit sebanyak 4 kali, dimana dapat menurunkan kadar urea sebesar 97 – 98% (berat kering) yaitu kadar urea awal sebesar 8,4% menjadi 0,2% (berat kering). Dan menyebabkan bau amoniak tidak terdeteksi lagi pada produk KPI

(Konsetrat Protein Ikan) serta tidak berpengaruh terhadap rasa dan aroma secara organoleptik.

Wahyuni (1992) dalam pembuatan sosis ikan cucut jenis lanyam (*C. limbatus*) menemukan bahwa apabila ikan cucut jenis ini (telah digiling) direndam dan dicuci dalam air dingin (5°C) sebanyak 3 kali ternyata mampu mereduksi urea dari rata-rata 5% (berat kering) menjadi rata-rata tidak terdeteksi lagi.

2. Penggunaan Asam dan Garam

Daging cucut ukuran besar (kira-kira 2,5 kg) akan kehilangan urea sebesar 64% setelah 24 jam direndam dalam larutan asam laktat 1,5%. Perendaman dalam air selama 8 jam dapat mengeluarkan 40% kandungan urea (Kreuzer and Ahmed, 1978).

Menurut Gordievskaya (1973) jika daging cucut yang telah diasamkan kemudian direndam dalam larutan garam dengan konsentrasi tinggi, maka 79 – 90% dari kandungan urea dapat direduksi. Daging cucut yang digunakan dalam bentuk segar maupun beku, dapat direndam dengan 1,5% asam laktat, dalam hal ini asam sitrat juga dapat digunakan.

Bila pencelupan daging dilakukan dalam asam asetat sebesar 5% selama 36 jam untuk ukuran daging 0,5 cm dapat mengurangi kandungan urea sampai 80% dari kandungan semula. Daging cucut dengan ukuran yang sama setelah digarami dengan larutan garam 10% selama 24 jam, kemudian direndam lagi dengan menggunakan larutan garam 30% selama 24 jam setelah penggaraman pertama, maka pada akhir penggaraman sisa kandungan ureanya mencapai kurang dari 1% (Priono, *et. al.*, 1984).

Berhimon (1982) yang melakukan perendaman daging cucut (*fillet*) di dalam kombinasi larutan garam 10% dan asam asetat 2% dapat menghilangkan urea sekitar 77% dan dapat tahan disimpan beku pada suhu -20°C selama 60 hari. Sulton (1994) dalam penelitiannya menggunakan perlakuan kombinasi cuka-ketimun mendapatkan bahwa daging cucut yang direndam dalam cuka 20 ml dan ketimun 60 ml dapat mengurangi urea sebesar 30%.

3. Penggunaan Panas

Yunizal *et. al.*, (1984) menggunakan “*superheated steam*) terhadap daging Cucut dalam bentuk fillet dengan

ukuran 7 x 5 x 1,5 cm, selama 90 menit hanya dapat mengurangi kadar urea sebesar 6,25% yaitu dari 2,40% menjadi 2,25%. Priono *et. al.* (1984) mengungkapkan bahwa pemasakan daging cucut dengan ukuran 10 x 5 x 2,5 cm dengan menggunakan larutan basa kalium hidroksida sebanyak 2,5% untuk waktu pemasakan 45 menit dapat mereduksi kadar urea sebanyak 80%. Nampaknya pemanasan yang terus-menerus melemahkan sistem ikatan urea dan memudahkan penghancuran ke dalam amoniak. Pada pembuatan tepung ikan Cucut untuk pangan dengan kombinasi perlakuan perendaman dalam air dan perebusan dalam air dapat mengurangi kandungan urea sebesar 976%, sedangkan dengan kombinasi perlakuan perendaman dalam HCL 0,054% dengan perebusan dalam larutan garam 3% mengurangi kandungan urea sebesar 92% (Juwono, 1989).

Adanya perbedaan dalam hasil yang diberikan ini disebabkan karena adanya perbedaan dalam tingkat kelarutan urea dalam asam, basa maupun air. Dengan demikian urea dalam daging tidak dapat direduksi secara sempurna, akibatnya oleh aktivitas bakteri yang

menghasilkan urease, urea diurai menjadi amonia dan CO₂ seiring dengan jalannya proses pembusukan.

6.1.2 Komposisi Kimia Daging Ikan Cucut

Sebagai salah satu sumber protein ikani, daging cucut tidak berbeda jauh dengan daging jenis ikan lainnya yang mengandung protein sekitar 20%. Yang sering menjadi keberatan dalam pemanfaatan daging cucut adalah terdapatnya senyawa urea dalam daging, darah dan organ lainnya. Adapun komposisi kimia daging ikan cucut dapat dilihat pada Tabel 7.2.

Waller (1980) *dalam* Berhimpon (1982) menyatakan bahwa mutu ikan cucut cepat sekali menurun bila ikan tidak ditangani dengan baik, disebabkan karena berkembangnya bau amoniak yang kuat terutama setelah dimasak. Dibandingkan dengan ikan bertulang keras, ikan bertulang rawan memiliki kandungan urea yang lebih tinggi, kandungan urea dari berbagai jenis cucut dapat dilihat pada Tabel 6.3.

Menurut Ilyas (1977) urea dapat memberikan rasa yang hambar dan dalam penguraiannya akan menghasilkan amoniak yang menyebabkan rasa dan bau yang tidak enak.

Tabel 6.2. Komposisi Kimia Daging Ikan Cucut^{*)}

Spesies	Air (%)	Protein (%)	Lemak (%)	Mineral (%)
Horn Shark (<i>Heterodontus francisci</i>)	79,6	17,7	0,3	1,8
Korothokhostaya (<i>Carcharhinus brachyurus</i>)	75,8	18,9	0,1	0,6
White tip shark (<i>Carcharodon archarias</i>)	76,9	19,9	0,3	1,3
Hammerhead (<i>Sohyna biochii</i>)	75,6	21,6	0,2	1,6
Silky shark (<i>Carcharhinus falciformis</i>)	73,6	21,7	-	1,2
Tiger shark (<i>Galeocerdo cuvieri</i>)	79,4	16,3	0,1	0,6
Black tip shark (<i>Carcharhinus limbatus</i>)	76,6	22,11	0,9	-

^{*)} Sumber : Kreuzer dan Ahmed (1978)

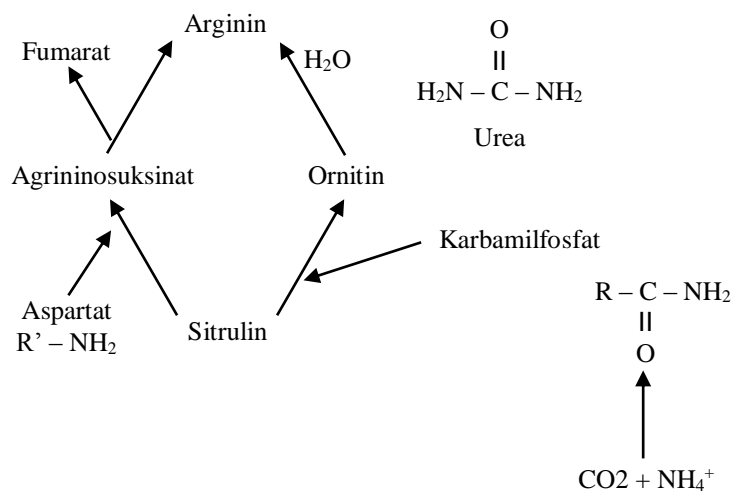
Tabel 6.3. Kandungan Urea Dari Berbagai Jenis Cucut^{*)}

Spesies	Kandungan Urea (mg/100g)
Spiny dog fish	1570
Black tip shark	1728
Lasser spotted dog fish	1775
Tiger shark	1990
Smoth hound	2038
Hammerhead	2330

^{*)} Sumber : Kreuzer dan Ahmed (1978)

Untuk mengatasi urea yang terdapat pada daging ikan cucut, telah banyak dikembangkan cara-cara penghilangan urea. Berhimpon (1982) menghilangkan urea melalui perendaman dalam larutan garam 10 persen dan asam asetat 2 persen selama 30 menit. Jumlah urea yang dapat dihilangkan dengan perlakuan tersebut sebanyak 77 persen.

Siklus urea dapat dilihat pada Gambar 6.1 di bawah ini.



Gambar 6.1. Siklus urea (Stryer, 1975 dalam Berhimpon, 1982)

6.2. Metode Penentuan

6.2.1 Metoda AOAC (1990)

Larutan urea *stock* :

5 mg/ml, yaitu 5.000 + 0,001 gram urea dalam air dan encerkan sampai volumenya mencapai satu liter.

Working solutions :

Pipet 2, 4, 6, 8, 10, 12, 14, 16, 18 dan 20 ml larutan *stock* ke dalam labu ukur 250 ml dan encerkan sampai batas volume menggunakan buffer fosfat, sehingga larutan mengandung 0.2, 0.4, 0.6, 0.8, 1.0, 1.2, 1.4, 1.6, 1.8 dan 2.0 mg urea/5 ml. Dari masing-masing larutan standar, dipipet sebanyak 5 ml dan dimasukkan ke dalam tabung reaksi. Masing-masing tabung reaksi ditambahkan 5 ml p-dimetil-amino benzalhidra (DMAB). Dibuat juga blanko dari 5 ml larutan buffer dan 5 ml larutan DMAB. Tabung reaksi dikocok kemudian didiamkan selama 10 menit. Kemudian diukur A (absorbansi) pada panjang gelombang 420 nm. Dalam penelitian ini dipakai spektonic 21. Bauch & Lomb (digital), yang langsung dapat membaca absorbansinya. Larutan standar yang sudah diketahui konsentrasinya, ditetapkan absorbansinya pada spectrophotometer.

Pengukuran :

1,00 gram daging Cucut segar yang telah dihaluskan ditimbang dan dimasukkan ke dalam erlenmeyer 500 ml. kemudian ditambahkan 100 g charcoal, kira-kira 250 ml air suling, 5 ml larutan $Zn(Oac)_2$ dan larutan $K_4Fe(CN)_6$. Kemudian distirer selama 30 menit dengan kecepatan tinggi dan volumenya ditetapkan sampai tanda tera. Larutan didiamkan sampai menjadi endapan, lalu disaring dengan kertas saring whatman no. 40 kemudian diambil filtratnya yang bening. Setelah itu filtrat MAB dan kocok sampai homogen. Buat blanko dan kedua tabung tersebut dibiarkan selama 10 menit dalam bak air $25^\circ C$. Pengukuran dilakukan pada spectrometer dengan panjang gelombang 420 nm.

6.2.2 Metoda Pewarnaan Enzimatis (Anonimous, 1986)

Kadar urea ditetapkan dengan metode pewarnaan enzimatis dengan menggunakan spektrometer dengan spesifikasi alat :

1. Model Photometer 4000 dengan system digital, serta menggunakan kuvet sebagai wadah sampel yang akan dianalisa, panjang gelombang 578 nm, dengan bilangan faktor 30.

- Menggunakan pompa penghisap dan penampung sampel hasil analisa dengan model Pump 4010 Clinicon.

Reagen	Isi	Konsentrasi
Larutan 1	Buffer/urease/Salicylate Buffer fosfat Urease Sodium salicylate Sodium nitropruside EDTA	120 mmol/l, pH 7 5/ml 62,5 mmol/l 5,0 mmol/l 1,48 mmol/l
Larutan 2	Hypochlorite Sodium hypochlorite Sodium hydroxide	6 mmol/l 150 mmol/l
Larutan 3	Standar Urea	30 mg/100 ml

Prosedur :

- Pertama-tama ditimbang 5 gram daging ikan Cucut asap dan tambahkan 20 ml aquades, kemudian diblender.
- Sampel yang terbentuk dimasukkan ke dalam tabung reaksi dan disentrifuge selama 20 menit dengan kecepatan 320 rpm.
- Filtrat yang terbentuk dipipet sebanyak 0,02 ml dan dimasukkan ke dalam tabung reaksi, lalu ditambahkan 2,50 ml larutan 1 dan diinkubasi selama 5 menit pada suhu 20 – 25°C.
- Setelah itu ditambahkan lagi 2,50 ml larutan 2 dan diinkubasi selama 10 menit pada suhu 20 – 25°C.

5. Kemudian dibaca konsentrasinya pada spektrofotometer yang telah ditetapkan pada standar.
6. Disamping itu juga dilakukan pengukuran terhadap reagen blanko dan standar. Untuk reagen blanko, dipipet 2,50 ml larutan pertama dan dinkubasi selama 10 menit.
7. Sedangkan untuk standar dipipet 2,50 ml larutan pertama dan ditambahkan 0,02 ml larutan 3 dan dinkubasi selama 10 menit.
8. Setelah itu, baik larutan standar dan reagen blanko dibaca konsentrasinya pada spektrofotometer.

6.2.3 Metoda Spektrofotometer

Untuk menghitung kadar urea menggunakan metode yang sama dengan perhitungan kadar protein yang larut dalam air dan protein yang larut dalam garam yaitu metode spektrofotometer dengan jenis alat R-A-50 *Chemistry Analyser*.

Prosedurnya sebagai berikut :

1. Penyiapan reagen yang terdiri atas :
 - a. Enzymes atau Coenzimes atau Substrate (I)
 - b. Buffer (IA)

Standar : urea 80 mg/dl (13,32 mM)

1. Penyiapan larutan kerja (*working solution*), dibuat dengan memasukkan 30 ml reagen IA ke dalam vial dan ditambahkan larutan I, hingga tanda batas. Larutkan dengan menggoyangkannya secara perlahan-lahan. Komponen-komponen dan masing-masing konsentrasinya sebagai berikut :

Tris buffer : 150 mM:pH 7,8

Alfa-ketoglutarate : 6 mM

Nicotinamide-adenine dinucleotide

NADH tereduksi : 0,34 mM

Adenosine-5'-diphosphate (ADP) : 0,6 mM

Urease : > 2,4 U/I

Glutamate dehydrogenase : > 0,33 U/I

Stabilizers

2. Sampel ditimbang sebanyak 5 gram dan dimasukkan ke dalam gelas blender lalu ditambahkan aquades sebanyak 20 ml. blender dijalankan dengan kecepatan tinggi selama 3 menit sampai benar-benar halus. Hasil ekstraksi dituang ke dalam tabung reaksi dan diberi label.

3. Tabung reaksi yang berisi hasil ekstraksi dijernihkan dengan menggunakan alat sentrifus.
4. Sampel yang berupa cairan diambil sebanyak 20 ml dan tidak perlu diblender dan disentrifus.
5. Supernatannya atau sampel yang berupa cairan diambil sebanyak 0,02 ml dimasukkan ke dalam tabung reaksi lain sekaligus ditambahlkan dengan larutan I sebanyak 1,00 ml.
6. Satu standar disiapkan untuk setiap satu seri penetapan kadar. Selanjutnya standar ditambahkan juga larutan I sebanyak 1,00 ml.
7. Kemudian didiamkan pada temperatur kamar selama sekurang-kurangnya 20 menit.
8. Alat spektrofotometer diatur pada panjang gelombang 340 nm.
9. Pengujian melalui alat dilakukan dengan cara memasukkan selang alat spektro ke dalam tabung reaksi yang berisi sampel dan standar. Secara otomatis alat akan menghitung sekaligus membandingkan nilai sampel dan standar kemudian menampilkan hasil akhirnya pada layar.

Prinsip Perhitungan Alat :

$$\frac{A \text{ sampel } (I - II)}{A \text{ standar } (I - II)} \times 93,7\%$$

Ket : A sampel = Absorbansi sampel

A standar = Absorbansi standar

93,7 = Absorbansi ragen

Kecepatan penurunan jumlah urea daging dapat ditentukan dengan menggunakan rumus :

$$V = \frac{\Delta U}{\Delta T} = \frac{U_2 - U_1}{t_2 - t_1}$$

Ket : V = Kecepatan Penurunan Urea

ΔU = Perubahan Jumlah Urea

ΔT = Perubahan Lama Perendaman (Menit)

U_2 = Jumlah Urea Akhir

U_1 = Jumlah Urea Awal

T_2 = Waktu Perendaman Akhir

T_1 = Waktu Perendaman Awal

6.3. Hasil-hasil Penelitian

6.3.1 Kadar Urea Pada Ikan Cucut Asap (Tirajoh, J., J. Pontoh-H., IK. Suwetja dan H. Lohoo, 1995)

Data hasil analisa kadar urea ikan cucut (*Carcharhimus limbatus*) asap dapat dilihat pada Tabel 6.4, dari data tersebut terlihat bahwa kadar urea terendah dijumpai pada fillet Cucut asap yang menerima perlakuan jenis bahan bakar tempurung kelapa, metode pengasapan secara konvensional dan

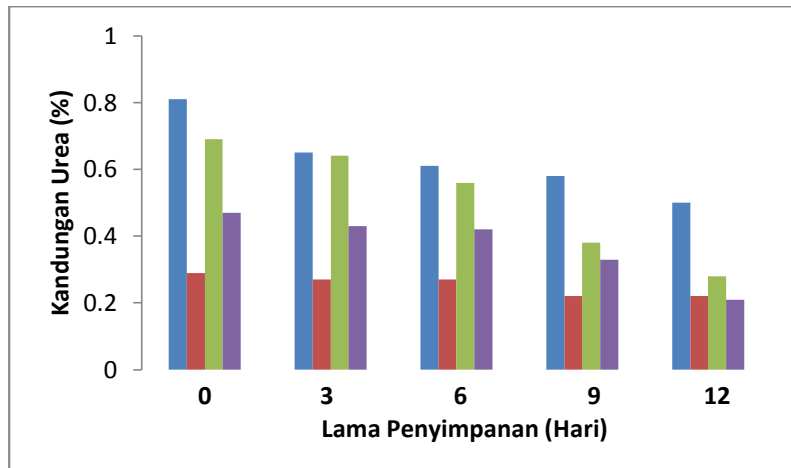
penyimpanan selama 12 hari pada suhu kamar, yaitu 0,21%. Kadar urea tertinggi yaitu 0,81% dijumpai pada fillet Cucut yang menerima perlakuan jenis bahan bakar kayu bakau, metode pengasapan dengan asap cair dan penyimpanan selama 0 hari pada suhu kamar.

Urea mempunyai sifat dapat terurai oleh panas, larut sangat baik dalam air, alcohol absolute, asam asetat dan pirimidin (Weast, 1976 *dalam* Berhimpon 1982). Adapun nilai rata-rata hubungan antara jenis bahan bakar, metode pengasapan dan lama penyimpanan terhadap kadar urea fillet ikan cucut (*Carcharhimus limbatus*) asap dapat dilihat pada Gambar 6.2 dan hubungan antara jenis bahan bakar dan lama penyimpanan terhadap kadar urea tersebut dapat dilihat pada Gambar 6.3.

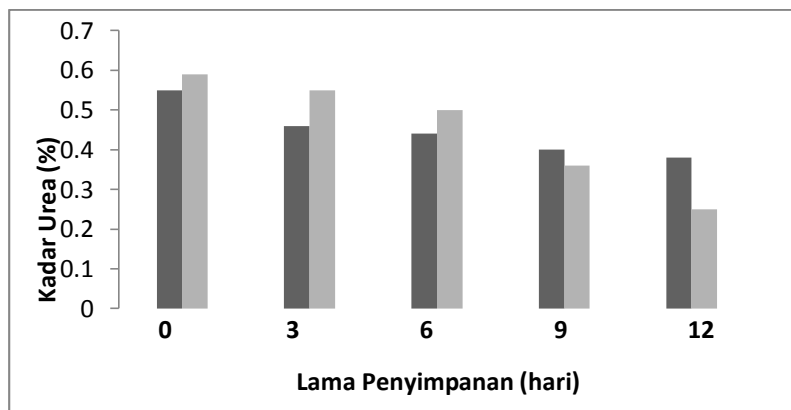
Berdasarkan histogram pada gambar tersebut, terlihat bahwa kadar urea fillet ikan cucut (*Carcharhimus limbatus*) asap, menurun selama masa penyimpanan. Penurunan kandungan urea tersebut disebabkan karena urea telah terurai menjadi amoniak yang berbau pesing. Urea memberikan rasa yang hambar dan dalam penguraiannya akan menghasilkan amoniak yang menyebabkan rasa dan bau yang tidak diinginkan.

Tabel 6.4. Data Pengamatan Kadar Urea Fillet Ikan Cucut (*Carcharhimus limbatus*) Asap

Jenis bahan bakar	Metode pengasapan	Lama penyimpanan (hari)	Kadar urea (%)		Rata-rata
			1	2	
Kayu bakar	Asap cair	0	0,77	0,85	0,81
		3	0,61	0,69	0,65
		6	0,51	0,70	0,61
		9	0,62	0,54	0,58
		12	0,47	0,56	0,5
	Konvensional	0	0,28	0,30	0,29
		3	0,20	0,34	0,27
		6	0,23	0,30	0,27
		9	0,23	0,21	0,22
		12	0,23	0,20	0,22
Tempurung kelapa	Asap cair	0	0,69	0,69	0,69
		3	0,60	0,68	0,64
		6	0,56	0,56	0,56
		9	0,49	0,26	0,38
		12	0,29	0,27	0,28
	konvensional	0	0,48	0,46	0,47
		3	0,50	0,36	0,43
		6	0,38	0,46	0,42
		9	0,31	0,35	0,33
		12	0,22	0,20	0,21



Gambar 6.2 Histogram Hubungan Antara Jenis Bahan Bakar Dan Metode Pengasapan dan Lama Penyimpanan Terhadap Kadar Urea Fillet Ikan Cucut (*Carcharhimus limbatus*) Asap



Gambar 6.3. Hubungan Antara Jenis Bahan Bakar dan Lama Penyimpanan Terhadap Kadar Urea Fillet Ikan Cucut (*Carcharhimus limbatus*) Asap

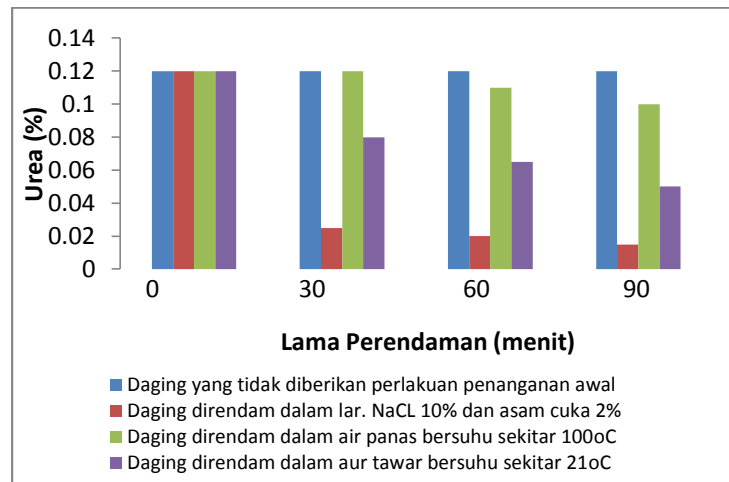
6.1.2 Kadar Urea Pada Daging Ikan Cucut yang Direndam Pada Air Panas, Air Garam dan Asam Cuka (Lubis, S., IK. Suwetja dan L. Damongilala, 1998)

Sampel untuk analisis urea diambil dari daging dan air sisa rendaman. Analisis dari jenis sampel yang berbeda dimaksudkan agar dapat diketahui seberapa besar urea yang terlarut akibat perlakuan dan seberapa urea yang tersisa pada daging.

1. Analisis Daging

Jumlah urea daging yang tidak diberikan perlakuan penanganan awal selama 0, 30, 60 dan 90 menit memiliki jumlah yang sama yaitu sekitar 0,12%. Diketahui bahwa jika daging cucut mentah dibiarkan begitu saja di udara terbuka maka lama kelamaan ureanya akan segera berubah menjadi amoniak. Tetapi dalam penelitian ini, daging yang dibiarkan begitu saja sampai selang waktu 90 menit ternyata jumlah ureanya belum mengalami perubahan yang begitu jauh. Data hasil analisisnya dapat dilihat pada Tabel 6.5. Sedangkan data urea terlarutnya pada Tabel 6.6.

Perbandingan jumlah urea (%) daging mentah yang tidak dan yang diberikan perlakuan penanganan awal dapat dilihat pada Gambar 6.4.



Gambar 6.4. Perbandingan Jumlah Urea (%) Daging Mentah Yang Tidak Dan Yang Diberikan Perlakuan Penanganan Awal

Jumlah urea yang tersisa dalam daging yang direndam dalam larutan NaCL 10% dan asam cuka 2% selama 0, 30, 60 dan 90 menit mengalami penurunan yaitu berturut-turut 0,12%, 0,03%, 0,02% dan 0,01%. Begitu juga untuk daging yang direndam dalam air panas bersuhu sekitar 100°C selama 0, 30, 60 dan 90 menit berturut-turut berjumlah 0,12%, 0,12%, 0,11% dan 0,10% serta daging yang direndam dalam air tawar

bersuhu sekitar 27°C selama 0, 30, 60 dan 90 menit berturut-turut berjumlah 0,12%, 0,08%, 0,07% dan 0,05%. Dari jumlah-jumlah tersebut maka dapat disimpulkan bahwa perlakuan yang paling banyak mengurangi kandungan urea daging yaitu perlakuan perendaman dalam larutan NaCL 10% dan asam cuka 2% lebih khusus untuk perlakuan selama 90 menit.

Kecepatan penurunan urea dari setiap perlakuan dapat ditentukan dengan menggunakan rumus. Untuk daging yang direndam dalam larutan NaCL 10% dan asam cuka 2%, kecepatan penurunan ureanya yaitu 0,0012 urea per menit. Daging yang direndam dalam air panas bersuhu 100°C yaitu 0,00022 urea per menit. Sedangkan daging direndam dalam air tawar bersuhu sekitar 27°C, yaitu 0,00078 urea per menit. Dari hasil perhitungan ini dapat disimpulkan bahwa semakin besar nilainya, maka metode perlakuan awal yang dilakukan semakin efektif.

2. Analisis Air Sisa Rendaman

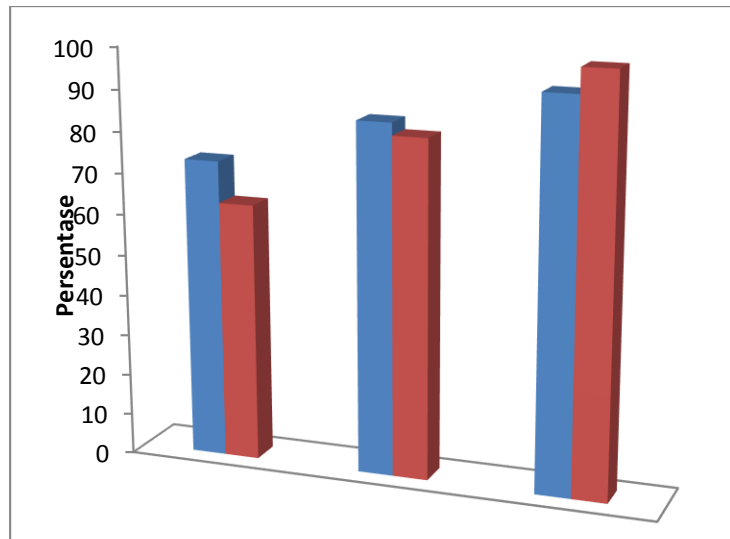
Data hasil urea terlarut dalam larutan NaCL 10% dan asam cuka 2%, dalam air panas bersuhu sekitar

100%, dalam air tawar bersuhu sekitar 27°C dengan lama perendaman masing-masing 0, 30, 60 dan 90 menit.

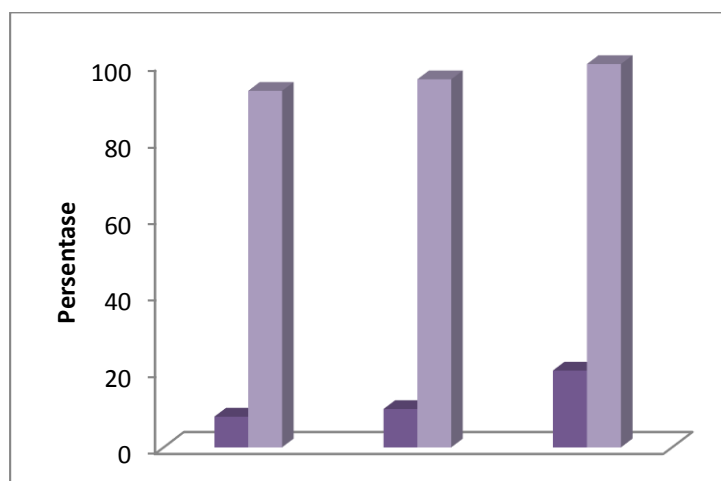
Jumlah urea terlarut dalam larutan NaCL 10% dan asam cuka 2% selama 30, 60 dan 90 menit masing-masing 0,08%, 0,10% dan 0,11% atau 70,83%, 83,33% dan 91,67% dari total urea daging. Jika nilai ini dibandingkan dengan nilai protein terlarut, maka perbandingannya 70,83% : 60%, 83,33% : 80% dan 91,67% : 100%. Dari perbandingan ini menunjukkan bahwa perlakuan dengan merendam daging dalam larutan NaCL 10% dan asam cuka 2% selama 30 dan 60 menit jumlah urea daging lebih banyak terlarut dibanding protein, tetapi pada 90 menit jumlah urea daging masih tersisa sedangkan jumlah protein yang larut dalam garam daging telah habis. Perbandingan jumlah urea (%) dan protein (%) terlarut dalam larutan NaCL 10% dan asam cuka 2%, ditunjukkan oleh Gambar 6.5.

Jumlah urea terlarut yang diperoleh dari hasil analisis urea dalam air panas bersuhu sekitar 100°C selama 30, 60 dan 90 menit, berturut-turut sekitar 0,005%, 0,01% dan 0,02% atau 4,17%, 8,33% dan

16,67% dari total urea daging. Jika dibandingkan dengan jumlah protein terlarut dalam air panas bersuhu sekitar 100°C selama 30, 60 dan 90 menit, maka jumlah protein yang terlarut adalah lebih banyak. Perbandingannya adalah 4,1% : 90%, 8,33% : 94%, 16,67% : 100% (ditunjukkan oleh Gambar 6.6.



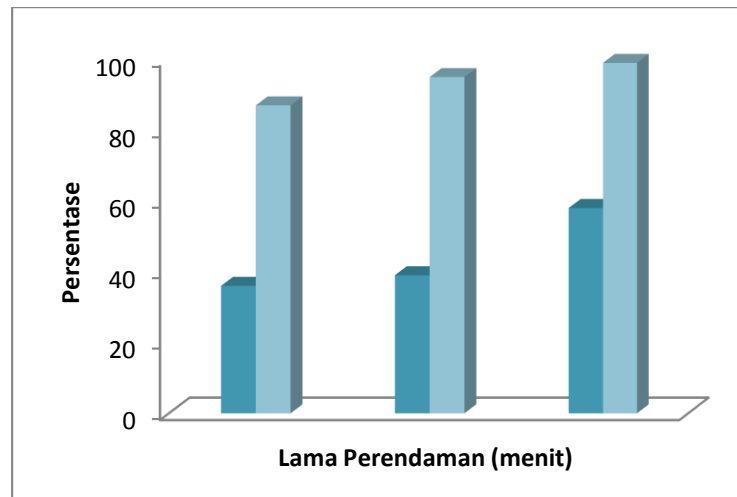
Gambar 6.5. Perbandingan Jumlah Urea dan Protein Terlarut (%) Daging Cucut Mentah Dalam Larutan NaCL 10% dan asam cuka 2%



Gambar 6.6. Perbandingan Jumlah Urea dan Protein Terlarut (%) Daging Cucut Mentah Dalam Air Panas Bersuhu Sekitar 100°C

Jumlah urea terlarut dalam air tawar bersuhu sekitar 27°C, semakin meningkat mengikuti lamanya waktu perendaman. Jumlah yang tertinggi diperoleh dari sisa rendaman daging Cucut mentah yang direndam selama 90 menit yaitu 0,07% atau 58,33% dari total urea daging, kemudian berturut-turut untuk yang 30 dan 60 menit yaitu sekitar 0,04% dan 0,045% atau 33,33% dan 37,50% dari total urea daging. Jika jumlah ini dibandingkan dengan jumlah protein terlarut dalam air tawar bersuhu sekitar 27°C selama 30, 60 dan 90 menit, maka perbandingannya, 33,33% : 84,00%, 37,50% :

92% dan 58,33 : 98%. Jumlah persen protein terlarut dihitung dari jumlah total protein terlarut daging. Perbandingan jumlah urea (%) dan protein (%) terlarut daging Cucut mentah dalam air tawar bersuhu sekitar 27°C, ditunjukkan oleh Gambar 6.7.



Gambar 6.7. Perbandingan Jumlah Urea dan Protein Terlarut (%) Daging Cucut Mentah Dalam Air Tawar Bersuhu Sekitar 27°C

Tabel 6.5. Data Urea (%) Daging Cucut Mentah Yang Tidak Dan Yang Diberikan Perlakuan Penanganan Awal

A	B	1	2	Total	Rataan
A1	B1	0,12	0,12	0,24	0,12
	B2	0,12	0,12	0,24	0,12
	B3	0,12	0,12	0,24	0,12
	B4	0,12	0,12	0,24	0,12
A2	B1	0,12	0,12	0,24	0,12
	B2	0,03	0,03	0,06	0,03
	B3	0,02	0,02	0,04	0,02
	B4	0,01	0,01	0,02	0,01
A3	B1	0,12	0,12	0,24	0,12
	B2	0,12	0,12	0,24	0,12
	B3	0,11	0,11	0,22	0,11
	B4	0,10	0,10	0,20	0,10
A4	B1	0,12	0,12	0,24	0,12
	B2	0,08	0,08	0,16	0,08
	B3	0,07	0,08	0,15	0,07
	B4	0,06	0,05	0,11	0,05

Tabel 6.6 Data Urea Terlarut (%) Daging Cucut Mentah Yang Tidak dan Yang Diberikan Perlakuan Penanganan Awal

A	B	1	2	Total	Rataan
A2	B1	0,09	0,08	0,17	0,09
	B2	0,10	0,10	0,20	0,10
	B3	0,12	0,12	0,24	0,11
A3	B1	0,005	0,005	0,01	0,005
	B2	0,01	0,01	0,02	0,01
	B3	0,02	0,01	0,03	0,02
A4	B1	0,04	0,04	0,08	0,04
	B2	0,04	0,04	0,08	0,04
	B3	0,07	0,07	0,14	0,07

BAB 7

METODE PENENTUAN BILANGAN PEROKSIDA

7.1. Perinsip Penentuan

7.1.1 Oksidasi Asam Lemak Setelah Hewan Mati

Bentuk kerusakan lemak yang terutama adalah ketengikan, sebagai akibat dari aksi oksigen. Lemak sangat mudah mengalami ketengikan oleh karena proses oksidasi sehingga mengakibatkan bau dan rasa yang tidak diinginkan, serta menyebabkan kerusakan *nutritif*, yaitu kerusakan asam lemak dan vitamin larut lemak yang esensial.

Ketengikan (*rancidity*) pada umumnya ditandai dengan adanya penurunan mutu berupa rasa dan bau yang terdapat pada bahan pangan yang berlemak. Selain karena proses oksidasi, ketengikan juga dapat disebabkan oleh absorpsi bau, aksi enzimatis dan aksi mikroba.

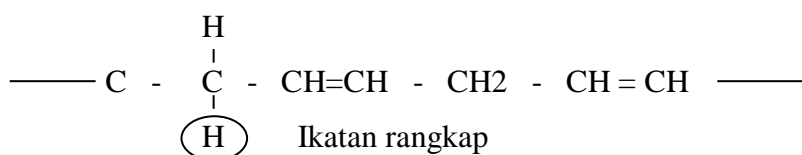
Adapun tipe penyebab ketengikan dalam lemak dapat dibedakan atas 3 golongan, yaitu :

1. Ketengikan oleh oksidasi (*oxidative rancidity*)
2. Ketengikan oleh enzim (*enzimatic rancidity*)
3. Ketengikan oleh proses hidrolisa (*hidrolitic rancidity*)

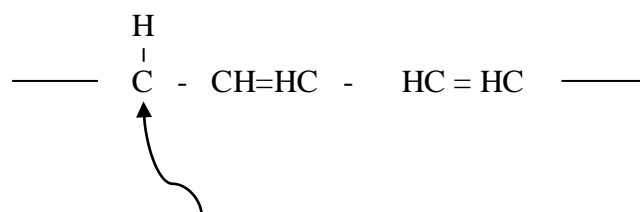
Kerusakan yang paling umum terjadi adalah ketengikan oleh oksidasi yang sering dinamakan oto-oksidasi.

Selama masa reaksi oto-oksidasi akan terbentuk senyawa peroksida. Reaksinya dipercepat karena adanya cahaya, kenaikan suhu, adanya oksigen, kelembaban dan adanya katalis lain.

Reaksi oto-oksidasi yang terjadi pada asam lemak tak jenuh akan membentuk radikal. Radikal yaitu suatu senyawa yang kehilangan sebagian elektronnya dan meninggalkan ikatan yang kosong sehingga menjadi sangat reaktif. Contoh mekanisme reaksi oto-oksidasi adalah sebagai berikut :

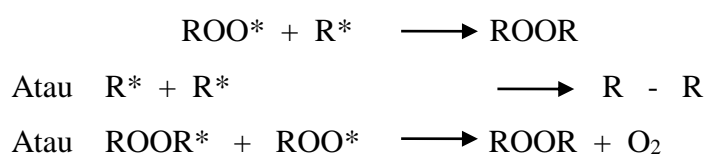


Dapat dilepas dari atom karbon yang terdekat dengan ikatan rangkap

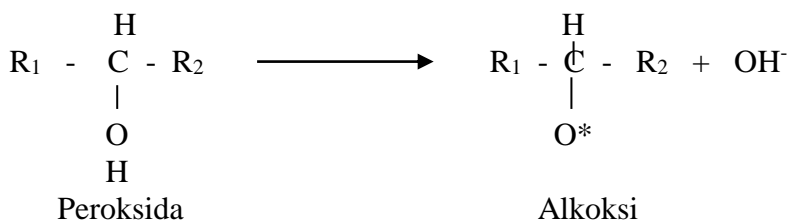


Elektron bebas, tidak berpasangan. Senyawa ini dapat ditulis dengan R dan disebut radikal R.

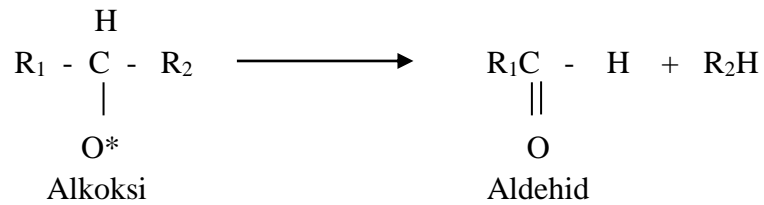
Demikian seterusnya rangkaian reaksi ini berjalan lanjut. Reaksi berantai ini baru dapat dihentikan bila suatu radikal bebas bereaksi dengan radikal bebas lainnya sehingga menjadi senyawa yang stabil, seperti contoh berikut ini :



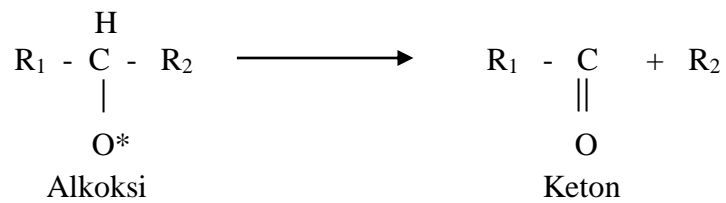
Apabila senyawa-senyawa peroksida sudah mencapai kadar tertentu, maka akan bersifat tidak stabil dan akan terurai lebih lanjut menjadi molekul yang lebih kecil, yang putus pada bagian peroksidanya (– O – O –) dan menjadi senyawa alkoksi (alkana yang mengandung oksigen) (Suwetja, 2011).



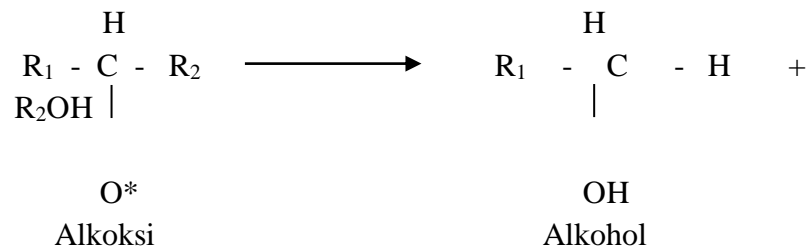
Senyawa alkoksi ini kemudian akan terurai lebih lanjut menjadi senyawa aldehyd dan alkana (keton dan alkohol).



Atau menjadi keton



Atau menjadi alkohol



Ketiga senyawa aldehid, keton dan alkohol yang molekulnya kecil ini bersifat volatil ndan inilah yang memberikan bau dan rasa tengik pada lipida.

7.1.2 Faktor- faktor Yang Mempengaruhi Oto-oksidasi

Faktor-faktor yang mempengaruhi oto-oksidasi asam lemak ada 2 jenis, yaitu faktor-faktor dari dalam dan dari luar.

Faktor-faktor dari dalam yang ikut mempengaruhi oto-oksidasi ini, antara lain:

1. Sifat asam lemak, tipe asam lemak, derajat ketidakjenuhan asam lemak, dan proporsi fosfolipida pada lemak ikan.
2. Penyebaran lemak pada tubuh ikan
3. Keberadaan senyawa-senyawa kimia tertentu di dalam tubuh ikan yang dapat bersifat aktivator atau inhibitor, dan senyawa-senyawa tersebut dapat berkontak dengan asam lemak.

Adapun faktor-faktor dari luar yang ikut mempengaruhi oto-oksidasi, antara lain:

1. Suhu
Semakin tinggi suhu, maka semakin cepat terjadinya pembentukan radikal bebas, dan mengakibatkan semakin cepat pula terjadinya penguraian peroksida. Penyimpanan pada suhu rendah dapat mencegah atau memperlambat terjadinya ketengikan. Tetapi pada suhu

yang cukup tinggi, misalnya pada proses pemanggangan, tidak akan menyebabkan ketengikan, bahkan dapat memberikan aroma yang sedap.

Dalam hal ini kecepatan akumulasi peroksida pada suhu 100 – 115°C sekitar 2 kali lebih besar dibandingkan pada suhu 10°C.

2. Oksigen

Meningkatnya tekanan oksigen pada lingkungan penyimpanan asam lemak, akan meningkatkan laju oksidasi. Oleh karena itu pengemasan, glazing dan pengeluaran udara dari sekitar bahan, dapat menghambat oksidasi asam lemak. Hasil penelitian yang dilakukan Suzuki pada tahun 1989, menunjukkan bahwa dengan penggunaan oksigen absorben selama 6 bulan penyimpanan pada suhu 22°C, 2°C dan -30°C, tidak terjadi EPA dan DHA yang nyata pada sampel minyak sardin yang diteliti.

3. Cahaya

Cahaya dapat mempercepat terjadinya ketengikan, sedangkan kombinasi cahaya dan oksigen dapat mempercepat oksidasi. Dari semua panjang gelombang sinar ultra violet sampai pada infra merah, yang paling

kuat pengaruhnya dalam memperlancar oksidasi lipida adalah sinar ultra violet. Namun demikian pencegahan dapat ditempuh dengan menggunakan pembungkusan dari bahan yang tidak tembus cahaya.

4. Kelembaban

Adapun lipida yang agak lembab atau yang basah kering tidak mudah menjadi tengik. Hal ini diduga disebabkan oleh adanya selapis air yang dapat mencegah lipida berkontak langsung dengan oksigen.

Akan tetapi pada tingkat kelembaban tertentu dapat meningkatkan terjadinya proses hidrolisis lipida. Oleh karena itu, perlu dicari nilai kelembaban yang tepat untuk mencegah terjadinya kedua hal penyebab kerusakan lipida.

7.1.3 Perubahan Akibat Pengawetan dan Pengolahan

Tepung ikan yang dibiarkan selama penyimpanan dalam waktu tertentu dapat menjadi tengik karena lemaknya teroksidasi, sehingga mengakibatkan warnanya berubah menjadi gelap yang tidak merata dan dapat menimbulkan panas di dalam tumpukan tepung ikan tersebut. Proses ketengikan ini akan berlanjut sehingga menghasilkan

peroksida dan berakibat buruk bila diberikan kepada ternak peliharaan, terutama bila kadar peroksidanya cukup tinggi.

Demikian pula halnya pada ikan yang diawetkan dengan cara pengeringan, juga dapat mengalami oksidasi lemak. Seperti diketahui bahwa ikan yang banyak mengandung lemak (*fatty fish*) seperti lemuru, bandeng, tawes dan lain-lain, sulit dikeringkan karena timbulnya bau tengik oleh oksidasi lemak selama proses pengeringan. Namun bagi ikan yang sedikit atau tidak berlemak (*lean fish*), tidak mengalami kesulitan serupa dalam proses pengeringannya.

Biasanya pemanasan dapat berpengaruh secara kimia dan fisik terhadap lemak. Pengaruh pemanasan terhadap sifat kimia lemak, antara lain:

1. Terbentuknya peroksida dari asam lemak tak jenuh dan
2. Peroksida dapat terurai lebih lanjut menjadi persenyawaan karbonil

Adapun perubahan sifat fisik lemak oleh karena adanya pemanasan, antara lain:

1. Titik cair. Suhu pada saat lemak mulai mencair disebut titik cair. Kebanyakan lemak mencair pada suhu antara 30-40°C.

2. Titik asap. Jika lemak atau minyak dipanaskan sampai suhu tertentu, akan mengalami dekomposisi, sehingga menghasilkan asap dengan bau yang khas menusuk. Kebanyakan lemak dan minyak mulai berasap pada suhu 200°C.
3. Titik nyala. Jika lemak dipanaskan sampai suhu yang cukup tinggi, hasilnya akan menyala. Suhu dimana minyak atau lemak mulai menyala ini disebut titik nyala. Pada dasarnya lemak mencair pada suhu 53°C dan setelah itu akan segera membeku kembali. Namun bila lemak ini dipanaskan lagi secara perlahan-lahan, maka akan mencair lagi pada suhu yang lebih tinggi yaitu 64,2°C dan membentuk kristal sampai mencair kembali pada suhu 71,7°C (Winarno, 1992). Biasanya titik lebur asam lemak akan berkurang dengan bertambahnya ketidakjenuhan dan juga berkurangnya berat molekul.

Jika diperhatikan bahwa pemanggangan dan penggorengan ikan akan mempengaruhi sifat-sifat kima lemaknya. Pengaruhnya tersebut, antara lain:

1. Walaupun laju oksidasi dapat dipercepat oleh perlakuan pemanggangan atau penggorengan, tetapi nilai peroksida

biasanya amat rendah, oleh karena peroksida yang terbentuk cepat mengurai.

2. Tidak seperti lemak teroksidasi pada suhu rendah, tapi bagi citarasa dan baunya dapat diterima dengan baik. Hal ini kemungkinan disebabkan oleh penghilangan produk-produk pecahan yang mudah menguap melalui proses penguapan.

Pada umumnya asam lemak omega-3 EPA dan DHA tidak banyak rusak selama proses pengalengan terhadap ikan tuna dan mackerel (Setiabudi, 1990).

Selama proses pendinginan dan pembekuan, lemak yang ada pada daging ikan dapat mengalami oksidasi. Namun jenis dan tingkatan oksidasi ini tergantung dari rendahnya suhu, lamanya pendinginan dan pembekuan, perlakuan pendahuluan yang dilakukan terhadap ikan, besarnya kandungan lemak ikan dan ada tidaknya penggunaan bahan pengawet dan antioksidan.

Pada proses perlakuan pendahuluan, misalnya penyayatan, penghilangan sisik, ataupun pemotongan, akan memberikan pengaruh yang sangat nyata pada oksidasi lemak selama penyimpanan. Selain itu lamanya pendinginan pada campuran es dan air. Sebelum hasil perikanan

dibekukan juga memegang peranan penting pada kerusakan lemak. Hal tersebut di atas dapat terjadi karena adanya kerusakan pada sel dan jaringan daging ikan, sehingga menyebabkan lemak dapat lebih banyak berhubungan dengan udara.

Adapun pengaruh suhu penyimpanan terhadap oksidasi lemak dapat dijelaskan bahwa oksidasi lemak masih dapat berlangsung pada suhu yang sangat rendah yaitu -18°C . Di bawah suhu ini oksidasi berjalan sangat lambat. Hasil penelitian menunjukkan bahwa perubahan angka TBA dan nilai peroksida pada daging ikan yang disimpan pada suhu di bawah -18°C adalah sangat kecil. Selain itu pembebasan asam lemak juga tidak terjadi di bawah suhu ini.

Jadi lamanya proses penyimpanan dingin juga mempunyai peranan penting. Makin lama penyimpanan (di atas suhu -18°C) oksidasi lemak makin banyak terjadi, yang ditandai oleh meningkatnya angka TBA, karbonil, maupun pembebasan asam-asam lemak.

7.1.4 Cara Mengatasi Oksidasi Lipida

Pada dasarnya cara mengatasi oksidasi dapat dilakukan dengan beberapa cara, antara lain pengepakan dan pemberian antioksidan. Pengepakan ikan dalam keadaan vakum, atau

menggantikan udara di sekitar bahan dengan gas nitrogen (N_2) yaitu gas yang tidak reaktif, dapat mencegah terjadinya kerusakan bahan pangan selama penyimpanan yang disebabkan oleh oksigen.

Keberadaan logam Fe, Cu, atau Mn, mudah mengkatalis reaksi oto-oksidasi. Oleh karena itu, perlu dicegah keberadaan atau bersinggungannya logam-logam tersebut selama penyimpanan ikan.

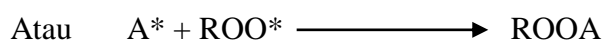
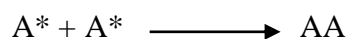
Pada penanganan dan pengolahan ikan atau bahan pangan lain berlemak, perlu dicegah kemungkinan terjadinya oksidasi lemak dengan bahan-bahan yang dapat mencegah oksidasi yang dinamakan antioksidan.

Dalam hal ini antioksidan adalah zat atau senyawa yang dapat mencegah oksidasi lemak. Menurut teori, suatu zat dapat bertindak sebagai antioksidan dengan bermacam-macam mekanisme. Mekanisme pencegahan oksidasi lemak tersebut, antara lain: pengikatan pesaing oksigen, pelambatan tahap permulaan, pemblokadean rambatan dengan cara merusakkan atau mengikat radikal bebas, penghambatan katalis, pemantapan hidroperoksida, dan lain-lain. Semua mekanisme ini ditemukan di dalam

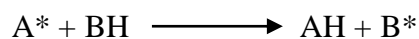
sistem pangan, tetapi mekanisme yang paling penting adalah pemblokadean rambatan.

Dalam proses pemblokadean rambatan, antioksidan (AH) bertindak sebagai pemberi hidrogen kepada radikal bebas seperti ROO atau RO.

Radikal bebas antioksidan A tidak aktif, di mana tidak memulai proses perambatan rantai, tetapi memasuki reaksi penghentian :



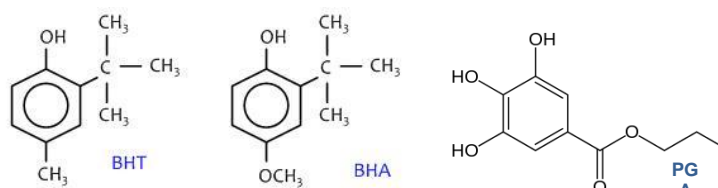
Antioksidan dapat juga dibangkitkan kembali bila pemberi hidrogen sekunder (BH) hadir, dan bilamana reaksi potensial oksidasi reduksi terjadi, maka reaksi seperti di bawah ini akan terjadi :



Salah satu golongan utama antioksidan adalah senyawaan-senyawaan fenol buatan dan alamiah. Sebagai contoh yaitu beberapa turunan katekol, tanin, gosipol, asam galat dan tokoferol. Semua senyawa fenol tersebut merupakan antioksidan yang kuat.

Adapun antioksidan fenol buatan yang telah diizinkan pemakaiannya dalam amakanan, antara lain: butil hidroksida

anisol (BHA), butil hidroksida toluene (BHT) dan propil ganda (PG) rumus ketiga jenis antioksidasi tersebut dapat dilihat pada Gambar 7.1.



Gambar 7.1 Rumus Struktur BHA, BHT dan PG

BHA, BHT dan PG sangat mudah menguap pada suhu penggorengan. Selanjutnya PG membentuk senyawaan berwarna gelap dengan ion-ion besi. Kebanyakan negara, BHA, BHT dan PG dipandang aman sebagai aditif pangan. Senyawaan-senyawaan tersebut digunakan sampai konsentrasi 200 bpj (bagian per sejuta) (ppm).

Adapun gugus butil tersier yang terikat pada BHA dan BHT dapat meningkatkan kemantapan radikal fenoksi yang bersangkutan dengan memberikan rintangan ruang untuk mencegah saling bereaksi dengan molekul lipida RH (perambatan).

Seperti diketahui bahwa penggunaan senyawaan fenol alamiah sebagai antioksidan sudah berlangsung sejak lama.

Senyawaan fenol yang dapat menghambat ketengikan ini yang menjadi alasan dalam pengawetan daging, ikan, keju dan makanan yang kaya lemak lainnya yang dilakukan dengan cara pengasapan dan perempahan yang menggunakan senyawaan fenol alamiah.

Diantara antioksidan alamiah, tokoferol yang memerlukan perhatian khusus. Kegiatan antioksidan tokoferol *in vivo*, merupakan kegiatan vitamin E yang utama. Kandungan alamiah tokoferol dalam minyak menjadi penting untuk kemantapannya.

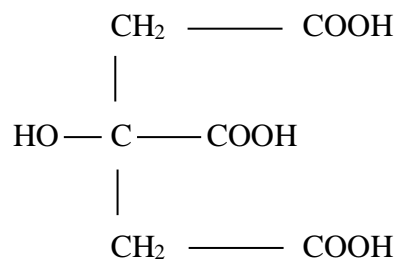
Pada berat yang sama, tokoferol kurang berpengaruh dibandingkan dengan antioksidan fenol buatan dan harganya jauh lebih mahal. Sebab itu tokoferol jarang digunakan dengan sengaja sebagai antioksidan.

Pemberian antioksidan pada air dingin atau pada campuran es dan air yang digunakan untuk mendinginkan hasil perikanan sebelum dibekukan, atau digunakan sebagai pelapisan es (*glazing*) dapat menghambat berkangsungnya oksidasi lemak sekitar setengahnya.

Selanjutnya antioksidan TBHQ (*monotertiary buthyl hydro quinon*) dan asam askorbat masing-masing sebanyak 0,25% dan 2% dapat berpengaruh nyata sebagai antioksidan.

PG, BHA dan BHT juga banyak digunakan sebagai antioksidan dalam pengawetan hasil-hasil perikanan.

Antioksidan-antioksidan yang telah dibahas di atas adalah antioksidan primer. Antioksidan-antioksidan tersebut bekerja langsung pada proses perambatan radikal bebas dan senyawaan-senyawaan tersebut memblokir reaksi rantai. Selain itu terdapat sejumlah zat lain yang mempunyai sedikit dampak terhadap oksidasi lipida, tetapi dapat meningkatkan kegiatan antioksidan primer. Zat-zat ini dinamakan “sinergis”. Salah satu sinergis yang terkenal dan banyak digunakan adalah asam sitrat. Kegiatannya tak langsung disebabkan oleh kemampuannya membentuk kompleks mantap dengan ion-ion logam prooksidan. Oleh karena strukturnya mengandung banyak gugus karboksil dan alpha-hidroksil, maka asam sitrat dapat berfungsi sebagai zat pengkelat logam yang kuat.



Asam Sitrat

7.2. Metode Penentuan

Pada dasarnya hasil-hasil oksidasi adalah senyawa-senyawa radikal bebas yang merupakan hasil antara, kemudian berlanjut menghasilkan senyawa-senyawa peroksida, aldehyd, dan karbonil. Seperti diketahui bahwa peroksida adalah senyawa pertama terjadi pada oksidasi, tetapi biasanya jumlahnya sangat kecil sehingga sukar dideteksi. Kemudian disusul timbulnya aldehyd terutama malonaldehyd dan yang terakhir adalah terbentuknya senyawa-senyawa karbonil.

Oleh karena itu kerusakan lemak dapat dideteksi dengan menganalisis senyawa-senyawa tersebut. Bilangan peroksida dinyatakan sebagai miliekivalen tiap satuan berat daging ikan sampel (meq/kg), sedangkan kandungan malonaldehydnya dapat dinyatakan sebagai angka TBA (tiobarbituric acid same dengan asam tiobarbiturat). TBA dengan malonaldehyd akan membentuk senyawa berwarna merah jambu stabil yang pada spektrofotometer menunjukkan puncak tertinggi pada panjang gelombang antara 528 – 535 nm. Adapaun kandungan karbonil dinyatakan dalam mol/gram bahan.

Dari ketiga cara tersebut, analisa TBA merupakan cara terbaik dan mudah dikerjakan pada pengujian produk-produk perikanan. Namun jika analisis TBA diikuti dengan analisis peroksida dan/atau karbonil, maka hasilnya akan lebih mencerminkan keadaan kerusakan lemak.

Selanjutnya prinsip-prinsip penentuan kerusakan lipida adalah sebagai berikut :

1. Penentuan bilangan asam/FFA merupakan penentuan tingkat hidrolisa lipida

2. Penentuan bilangan peroksida

Bilangan peroksida ditentukan berdasarkan jumlah iodine yang dibebaskan setelah lemak atau minyak ditambahkan KI. Lemak direaksikan dengan KI dalam asam asetat dan kloroform (2:1), kemudian iodine yang terbentuk ditentukan dengan titrasi memakai sulfit.

7.2.1 Analisis Bilangan Peroksida (Apriyantono *dkk*, 1989)

Penentuan bilangan peroksida biasanya didasarkan pada pengukuran sejumlah iodine yang dibebaskan dari potasium iodida melalui reaksi oksidasi oleh peroksida. Prosedur kerja: ditimbang secara tepat 5 gr contoh ke dalam erlenmeyer 250 ml. kemudian 30 ml pelarut (campuran

larutan asam asetat glasial 60% dan kloroform 40%), dikocok hingga larut. Lalu ditambahkan 0,5 ml larutan potasium iodida jenuh, dibiarkan di tempat gelap selama 2 menit, sambil sekali-kali larutan digoyang dan ditambahkan 30 ml air destilata. Campuran tersebut dititrasasi dengan larutan tio sulfat 0,1 N atau 0,01 N tergantung dari banyaknya jumlah iod yang dibebaskan. Titrasasi harus dilakukan secara tepat sampai warna kuning hampir hilang (kuning muda). Ditambahkan larutan pati sebanyak 0,5 ml 1% dan titrasasi diteruskan. Erlenmeyer digoyang secara tepat sampai mendekati titik akhir yaitu warna biru gelap menghilang. Penentuan pada blanko juga dilakukan dan setiap penentuan contoh dan blanko dilakukan secara duplo.

$$\text{Perhitungan bilangan peroksida} = \frac{(S - B \times N \times 1000)}{W}$$

Keterangan : S = volume titrasasi (ml) sampel

B = volume titrasasi (ml) blanko

N = normalitas Na₂S₂O₃ (mEq/ml)

W = berat sampel (gs)

7.2.2 Analisis Bilangan Peroksida (SNI.01-3555-1994)

Bilangan peroksida ditetapkan dengan cara titrasasi yodometri sebagai berikut:

Ditimbang 0,3 – 5 g sampel dalam erlenmeyer bertutup dan ditambahkan 30 ml larutan asam asetat-kloroform (3:2). Larutan digoyang sampai bahan terlarut semua. Ditambahkan 0,5 ml larutan jenuh kalium yodida. Didiamkan selama 1 menit, digoyang, kemudian tambahkan 75 ml air suling, kocok dengan kuat. Selanjutnya titrasi dengan 0,1 N Na₂S₂O₃ sampai warna kuning hampir hilang. Ditambahkan 0,5 ml larutan pati 1%. Dilanjutkan dengan titrasi sampai warna biru mulai hilang. Lakukan penetapan blanko. Angka peroksida dinyatakan dalam miliequivalen dari peroksida dalam setiap 1000 g contoh.

$$\text{Angka peroksida meq/1000g} = \frac{\text{ml Na}_2\text{S}_2\text{O}_3 \times 1000}{\text{berat contoh (g)}}$$

7.2.3 Analisis Bilangan Peroksida (AOCS, 1990)

Masukkan 0,5 gram minyak ikan, tambahkan 30 ml larutan kloroform asetat glacia (2.3 v/v) dikocok. Tambahkan 0.5 ml larutan KI jenuh sambil dikocok, sampel didiamkan selama 2 menit di tempat gelap dan tambahkan 30 ml aquades. Kemudian titrasi dengan larutan standar Na-tiosulfat 0,1 N dengan indikator amilum. Pada tiap-tiap penentuan angka peroksida secara titrasi dilakukan juga titrasi blanko sebagai dasar perhitungan angka peroksida.

$$\text{Angka peroksida} = \frac{\text{ml titrasi (contoh - blanko} \times N \text{ Na}_2\text{S}_2\text{O}_3)}{(W \text{ berat sampel (g)})}$$

7.3. Hasil-Hasil Penelitian

7.3.1 Hasil Analisis Bilangan Peroksida., I K. Suwetja dan H. (PoV) Ham Cakalang (Dotulong, V., S. Berhimpon, I K. Suwetja dan A. Apriyantono, 1996)

Data hasil analisa bilangan peroksida ham cakalang dapat dilihat pada Tabel 7.1.

Tabel 7.1. Data hasil analisa bilangan peroksida ham cakalang

Pemberian asam askorbat	Cara pengemasan plastik	Lama penyimpanan (hari)	Bilangan peroksida (meg/1000 gr sampel)	
			1	2
Tanpa asam askorbat	Tanpa vakum	0	1,9	1,5
		7	8,9	9,0
		14	8,7	9,2
		21	12,3	12,2
	vakum	0	1,6	2,0
		7	4,3	4,7
		14	8,7	8,1
		21	11,0	10,2
Asam askorbat 2%	Tanpa vakum	0	1,6	1,8
		7	2,6	2,8
		14	10,4	12,5
		21	11,2	10,1
	vakum	0	1,5	1,9
		7	1,8	1,9
		14	6,7	6,9
		21	9,4	10,4

Data ini menunjukkan bahwa rata-rata bilangan peroksida terendah adalah 1,6 meg/1000 gr sampel dijumpai pada interaksi perlakuan penggunaan asam askorbat 2%, kemasan vakum, dan lama penyimpanan 0 hari. Sedangkan bilangan peroksida tertinggi dijumpai pada interaksi perlakuan tanpa asam askorbat, kemasan tanpa vakum dan lama penyimpanan 21 hari yaitu 12,27 meg/1000 gr sampel. Hasil analisa sidik ragam bilangan peroksida dan uji duncan dapat dilihat pada Tabel 7.2.

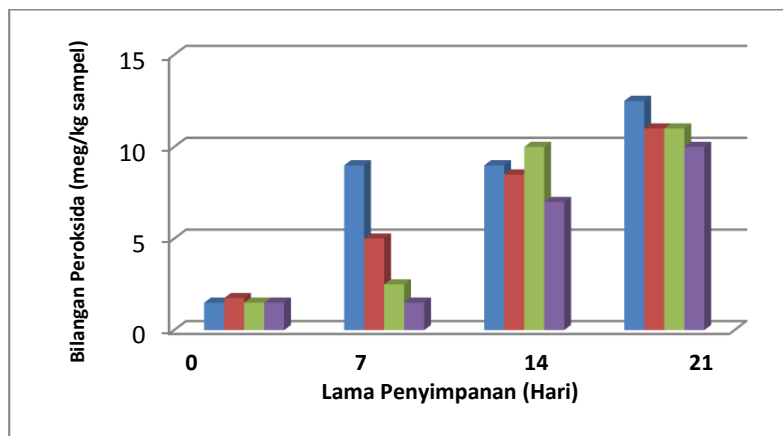
Tabel 7.2. Analisa sidik ragam bilangan peroksida ham cakalang

Sumber keragaman	DB	Jumlah Kuadrat	Kuadrat Tengah	Nilai F		
				Hitung	0,05	0,01
Pemberian asam askorbat (A)	1	17,99	17,99	92,94**	4,49	8,53
Cara pengemasan (B)	1	15,28	15,28	78,95**	4,49	8,53
Lama penyimpanan (C)	3	400,91	133,64	690,92**	3,24	5,59
Interaksi :						
AB	1	0,36	0,36	1,83**	4,49	8,53
AC	3	24,27	8,09	41,81**	3,24	5,29
BC	3	7,91	2,64	13,62**	3,24	5,29
ABC	3	9,35	3,12	16,10**	3,24	5,29
Galat	16	3,10	0,19			

Histogram hubungan antara pemberian asam askorbat, cara pengemasan dan lama penyimpanan (Gambar 7.2),

menunjukkan bahwa pada penyimpanan 0 hari semua interaksi perlakuan mempunyai bilangan peroksida yang tidak berbeda yaitu antara 1,6 meg/kg sampel sampai 1,8 meg/kg sampel dan kenaikan bilangan peroksida yang mencolok terjadi pada penyimpanan ke 14, kecuali untuk interaksi tanpa perlakuan asam askorbat dan pengemasan tanpa vakum kenaikan yang mencolok sudah terjadi pada hari penyimpanan ke-7. Hal ini mungkin disebabkan pada ham Cakalang tanpa pemberian asam askorbat dan kemasan tanpa vakum tidak ada penghalang bagi oksidasi lipid. Dibandingkan dengan interaksi lainnya yang mempunyai faktor pembatas bagi oksidasi lipid selama penyimpanan. Tappel *et. al.* (1991) dalam Matsumoto (1991) menyatakan bahwa asam askorbat dapat menghambat proses oksidasi dan autoksidasi, juga Regenstin (1990) dan Santos (1991) menyatakan bahwa penggunaan asam askorbat fungsinya sangat efektif dalam menangkap oksigen. Asam askorbat yang tinggi merupakan faktor penghambat oksidasi lipid. Selanjutnya Khayat and Schwall (1983) menyatakan bahwa oksidasi lipid meningkat dengan naiknya tekanan oksigen, karena itu pengemasan dan pengeluaran udara dapat menghambat ketengikan. Dari Gambar 8.2 dapat

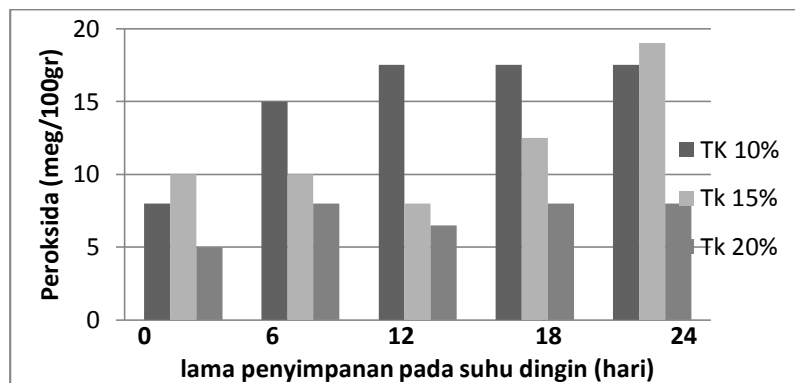
disimpulkan bahwa selama penyimpanan bilangan peroksida mengalami kenaikan dan paling tinggi pada interaksi perlakuan tanpa asam askorbat, kemasan tanpa vakum dan lama penyimpanan 21 hari yaitu 12,3 meg/1000 gram sampel. Pada ham yang diberi asam askorbat, dikemas vakum sampai hari penyimpanan ke-21 baru 9,7 meg/1000 gram sampel berarti ham Cakalang yang diberi asam askorbat dan dikemas vakum sampai hari penyimpanan ke-21 masih bisa diterima. Connel (1975) dalam Berhinpon (1982) menyatakan bahwa apabila bilangan peroksida lebih dari 10 – 20 meg/1000 g sampel maka kemungkinan ikan sudah berbau, mempunyai rasa tengik dan ditolak konsumen.



Gambar 7.2. Hubungan antara pemberian asam askorbat, cara pengemasan dan lama penyimpanan

7.3.2 Hasil Analisis Bilangan Peroksida Nugget Ikan (Kumolotong, N., IK. Suwetja dan H. Onibala, 2013)

Data pengaruh perlakuan terhadap bilangan peroksida nugget ikan dapat dilihat pada. Nilai rata-rata bilangan peroksida nugget ikan berkisar antara 5,95 meg/1000 gr sampai dengan 19,68 meg/1000 gr. Nilai peroksida tertinggi terdapat pada nugget ikan dengan konsentrasi tepung kelapa 15% (A2) pada lama penyimpanan 24 hari (B5) dan nilai peroksida terendah terdapat konsentrasi tepung kelapa 20% (A3) dengan lama penyimpanan 0 hari (B1). Data analisa lebih lanjut ialah hubungan antara konsentrasi tepung kelapa dan lama penyimpanan terhadap nilai peroksida nugget ikan seperti pada Gambar 7.3.



Gambar 7.3. Histogram hubungan antara konsentrasi tepung kelapa dan lama penyimpanan terhadap nilai peroksida nugget ikan

Berdasarkan Gambar 7.3 di atas terlihat bahwa semakin tinggi konsentrasi tepung kelapa cenderung terjadi penurunan nilai peroksida. Hal ini disebabkan karena tepung kelapa yang digunakan mengandung lemak rendah. Semakin lama penyimpanan kecenderungan semakin tinggi kandungan peroksida. Diduga hal ini terjadi disebabkan karena terjadinya proses oksidasi antra lemak tak jenuh pada nugget ikan dengan oksigen yang ada pada ruang penyimpanan. Pada proses ini akhirnya menghasilkan bau tengik. Ilyas (1968) disitir Muhammad Rusdi (1986) ketengikan adalah hasil dari penguraian oksidatif lemak-lemak tidak jenuh. Langkah pertama dalam dekomposisi tersebut adalah mengadisi O_2 pada atom C yang berdampingan dengan atom C yang tidak jenuh kemudian membentuk hydrogen peroksida. Ketaren (1986) menyatakan bahwa semakin tinggi bilangan peroksida suatu bahan pangan maka semakin tinggi pula kerusakan lemak akibat proses pengolahan pangan.

Hasil analisis sidik ragam pengaruh konsentrasi tepung kelapa dan lama penyimpanan pada suhu dingin terhadap bilangan peroksida dapat dilihat pada Tabel 8.3. Pada tabel tersebut terlihat bahwa konsentrasi tepung kelapa dan lama

penyimpanan memberikan pengaruh sangat nyata ($p < 0,01$) terhadap bilangan peroksida nugget ikan, terdapat interaksi antar kedua perlakuan. Adanya pengaruh antara konsentrasi tepung kelapa dan lama penyimpanan terhadap nilai peroksida disebabkan karena terjadinya oksidasi antara asam lemak tak jenuh pada ikan dengan oksigen yang ada pada ruang penyimpanan.

Tabel 7.3. Analisis Ragam Pengaruh Konsentrasi Tepung Kelapa dan Lama Penyimpanan Terhadap Bilangan Peroksida Nugget Ikan

Perlakuan	DB	Jumlah Kwadrat	Kwadrat tengah	F _{hitung}	F _{tabel}	
					5%	1%
A	2	289,42	144,71	59,778	3,68	6,36
B	4	184,81	46,20	19,086	3,06	4,89
AB	8	115,84	14,48	5,982	2,64	4,00
Error	15	36,31	2,42			
Total	29					

Peningkatan bilangan peroksida secara nyata selama penyimpanan menunjukkan telah terjadi reaksi oksidasi pada produk. Proses oksidasi dapat terjadi bila ada kontak antara minyak atau lemak dengan oksigen. Oksidasi ini terjadi pada ikatan tidak jenuh dalam asam lemak. Kenaikan bilangan peroksida merupakan salah satu indikator dan

peringatan bahwa produk akan berbau tengik dan mengalami kerusakan (Ketaren, 1986).

Nilai tertinggi bilangan peroksida nugget ikan 19,68 pada penyimpanan 24 hari. Tingginya kandungan peroksida ini mengindikasikan adanya penurunan mutu. Menurut Connel (1975) disitir Berhinpon (1982) *dalam* Sangger (2010), bilangan peroksida suatu produk pangan yang lebih dari 10 – 20 meg/1000 gram kemungkinan sudah ditolak.

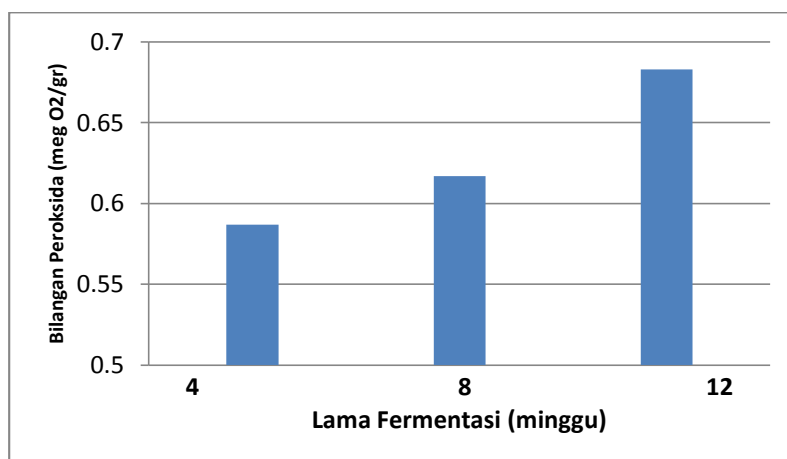
Hasil uji lanjut Tukey memperlihatkan bahwa perlakuan konsentrasi tepung kelapa menunjukkan (A1) berbeda nyata dengan A2 dan A3 ($p < 0,05$) A2 berbeda nyata dengan A3 ($p < 0,05$). Untuk perlakuan lama penyimpanan menunjukkan bahwa B1 berbeda nyata dengan B2, B3, B4 dan B5 ($p > 0,05$). Perlakuan B3 berbeda dengan B5 tetapi tidak berbeda dengan B2 dan B4 ($p < 0,05$). Interaksi antar perlakuan menunjukkan bahwa perlakuan A3B1 berbeda nyata dengan A2B2, A2B1, A2B4, A1B2, A1B4, A1B3, A1B5, A2B5, ($p < 0,05$) tetapi tidak berbeda nyata dengan A3B3, A1B1, A3B2, A2B3, A3B4, A3B5 dan perlakuan A3B4 berbeda dengan A1B2, A1B4, A1B3, A1B5, A2B5, ($p > 0,05$) tetapi tidak berbeda dengan A3B5, A2B2, A2B1. Perlakuan A1B2 berbeda nyata dengan A3B1,

A3B3, A1B1, A3B2, A2B3, A3B4, A3B5, A2B2, A2B1 ($p>0,05$) tetapi tidak berbeda dengan A1B4, A1B3, A1B5 dan A2B5 ($p>0,05$). Fluktuasi perubahan nilai ini diduga terjadi karena peroksida tidak stabil. Ilyas (1968) disitir Muhammad Rusdi (1986) menyatakan bahwa senyawa peroksida yang terbentuk tidak stabil dan pecah menjadi sejumlah produk-produk dekomposisi yang menghasilkan ketengikan. Kenaikan kadar peroksida dapat bervariasi tergantung jenis lemak/minyak, suhu dan lama penyimpanan.

Winarno (1992) menyatakan bahwa proses ketengikan sangat dipengaruhi oleh adanya prooksidan dan antioksidan. Prooksidan akan mempercepat terjadinya oksidasi sedangkan antioksidan akan menghambat terjadinya oksidasi.

7.3.3 Hasil Analisis Bilangan Peroksida (Nara, S., F. G. Ijong, I K. Suwetja dan H. Onibala, 2013)

Bilangan peroksida menunjukkan suatu reaksi yang terjadi pada minyak/lemak karena proses pengolahan dan adanya kontak dengan oksigen. Hasil analisis bilangan peroksida pada sampel in situ mengalami peningkatan seperti ditunjukkan pada Gambar 7.4.



Gambar 7.4. Histogram Bilangan Peroksida

Bilangan peroksida dapat digunakan sebagai petunjuk adanya kerusakan oksidatif pada minyak atau lemak. Peroksida adalah senyawa pertama yang terjadi pada oksidasi kemudian disusul timbulnya aldehid terutama malonaldehid dan terakhir adalah terbentuknya senyawa-senyawa karbonil.

Pada Gambar 8.4 dapat dilihat terjadinya peningkatan bilangan peroksida selama proses fermentasi 4 minggu dari 0,587 meq O₂/gr menjadi 0,683,587 meq O₂/gr setelah fermentasi 12 minggu. Makin lama fermentasi semakin meningkat bilangan peroksida. Standarisasi Nasional Indonesia (SNI) menetapkan batas bilangan peroksida untuk bahan makanan yang mengandung lemak adalah 10 – 20 meq

O₂/gr (Anonymous, 1991 b) yang berarti produk ini tidak berpotensi untuk mengalami ketengikan. Semakin meningkatnya bilangan peroksida menunjukkan bahwa jumlah peroksida semakin banyak dan dapat diduga bahwa tingkat reaksi oksidasi semakin tinggi. Stabilitas oksidasi asam lemak dipengaruhi oleh suhu, konsentrasi oksigen, cahaya, logam, aktivitas air, prooksidan, antioksidan dan katalis (Kusnandar, 2010).

Proses oksidasi menyebabkan lemak mengalami ketengikan, Suwetja (2011) menyatakan ketengikan (*rancidity*) pada umumnya ditandai dengan adanya penurunan mutu berupa rasa dan bau yang terdapat pada bahan pangan yang berlemak, serta menyebabkan kerusakan nutritif, yaitu kerusakan asam lemak dan vitamin larut lemak esensial.

7.3.4 Analisis Bilangan Peroksida (PoV) dan TBA pada Minyak Ikan Tongkol dan Ikan Lele (Ibrahim Y, I K. Suwetja dan F. Mentang, 2015)

Dalam penelitian ini angka peroksida ditentukan karena angka peroksida merupakan nilai terpenting untuk menentukan derajat kerusakan minyak. Asam lemak tak jenuh dapat mengikat oksigen pada ikatan rangkapnya

sehingga membentuk peroksida. Semakin kecil angka peroksida berarti kualitas minyak semakin baik. Karakteristik campuran minyak ikan tongkol dan ikan lele yang meliputi bilangan peroksida dan bilangan TBA disajikan dalam Tabel 7.4.

Tabel 7.4. Bilangan Peroksida (PoV) dan TBA Minyak Ikan Tongkol (*Euthynnus affinis*) dan Ikan Lele (*Clarias* sp)

Karakteristik	Jenis minyak ikan				
	Ikan tongkol (<i>Euthynnus affinis</i>)	Ikan lele (<i>Clarias</i> sp)	A	B	C
PoV (Meq/kg)	0,84	1,12	1,37	0,72	0,52
TBA (mg malonaldehid/kg)	1,47	1,54	1,19	1,04	0,98

Keterangan : Semua angka diukur 3 kali ulangan

Hasil penelitian menunjukkan bahwa angka peroksida pada berbagai perbandingan campuran minyak ikan tongkol dan ikan lele berkisar antara 0,52-1,37 meq/kg. Hasil terendah terdapat pada perlakuan C (1 ml : ½ ml) yaitu sebesar 0,52 meq/kg dan tertinggi terdapat perlakuan A (1 ml : 1 ml) yaitu 1,37 meq/kg.

Makin tinggi campuran minyak ikan lele, makin tinggi PoV dan TBA, ini diduga dipengaruhi oleh kandungan asam lemak tidak jenuh PUFA yang tinggi pada minyak ikan

tongkol, dimana MUFA ikan lele dapat meningkatkan kandungan PUFA (Tabel 7.4). Keogh *et al.* (2001) dan Shen dan Wijesundera (2009) mengemukakan bahwa asam-asam lemak tidak jenuh rantai panjang PUFA mudah teroksidasi karena pemanasan, penyimpanan dan prosesing.

Semakin rendah angka peroksida pada minyak berarti semakin bagus kualitas minyak tersebut. Hal ini diungkapkan oleh Panagan *et. al.* (2011), bahwa semakin kecil angka peroksida berarti kualitas minyak semakin baik. Terjadinya angka peroksida dalam minyak ikan diakibatkan oleh panas pada proses ekstraksi, hal tersebut terjadi karena pemutusan ikatan rangkap pada asam lemak tak jenuh. Hal ini sesuai dengan pernyataan yang diungkapkan oleh Edwar *et. al.*, (2011), minyak mengalami peningkatan angka peroksida karena terputusnya ikatan rangkap akibat suhu pemanasan. Perbedaan kadar peroksida pada minyak ikan disebabkan oleh kandungan asam lemak tak jenuh yang terdapat pada spesies ikan. Semakin tinggi kandungan asam lemak tak jenuh pada ikan maka semakin tinggi pula kadar peroksida minyak yang dihasilkan.

Hasil analisis ragam menunjukkan bahwa perbandingan campuran minyak ikan tongkol dan lele tidak

memberikan pengaruh yang nyata ($P>0,05$) terhadap peroksida. Hal ini diduga bahwa kandungan MUFA pada minyak ikan lele dapat menstabilkan oksidasi primer (peroksida).

Kandungan PoV pada penelitian ini berkisar 0,52 – 1,37 meq/kg, nilai PoV ini stabil dan di bawah standar minyak ikan yang ditetapkan oleh *International Fishmeal and Oil Manufactured Assosiation* (IFOMA). Menurut Bimbo (1998), standar bilangan peroksida yang ditetapkan oleh IFOMA adalah 3-20 Meq/kg.

BAB 8

METODE PENENTUAN ANGKA TBA

8.1. Perinsip Penentuan

Pengujian Kerusakan Lipida Ikan

Pada dasarnya hasil-hasil oksidasi adalah senyawa-senyawa radikal bebas yang merupakan hasil antara, kemudian berlanjut menghasilkan senyawa-senyawa peroksida, aldehid dan karbonil. Seperti diketahui bahwa peroksida adalah senyawa pertama terjadi pada oksidasi, tetapi biasanya jumlahnya sangat kecil sehingga sukar dideteksi. Kemudian disusul timbulnya aldehid terutama malonaldehid dan yang terakhir adalah terbentuknya senyawa-senyawa karbonil.

Oleh karena itu kerusakan lemak dapat dideteksi dengan menganalisis senyawa-senyawa tersebut. Bilangan peroksida dinyatakan sebagai miliekivalen tiap satuan berat daging ikan sampel (meq/kg), sedangkan kandungan malonaldehidnya dapat dinyatakan sebagai angka TBA (tiobarbituric acid same dengan asam tiobarbiturat). TBA dengan malonaldehid akan membentuk senyawa berwarna merah jambu stabil yang pada spektrofotometer menunjukkan puncak tertinggi pada panjang gelombang

antara 528 – 535 nm. Adapaun kandungan karbonil dinyatakan dalam mol/gram bahan.

Dari ketiga cara tersebut, analisa TBA merupakan cara terbaik dan mudah dikerjakan pada pengujian produk-produk perikanan. Namun jika analisis TBA diikuti dengan analisis peroksida dan/atau karbonil, maka hasilnya akan lebih mencerminkan keadaan kerusakan lemak.

Selanjutnya prinsip-prinsip penentuan kerusakan lipida adalah sebagai berikut:

1. Penentuan bilangan asam/FFA merupakan penentuan tingkat hidrolisa lipida

2. Penentuan bilangan peroksida

Bilangan peroksida ditentukan berdasarkan jumlah iodine yang dibebaskan setelah lemak atau minyak ditambahkan KI. Lemak direaksikan dengan KI dalam asam asetat dan kloroform (2:1), kemudian iodine yang terbentuk ditentukan dengan titrasi memakai sulfit.

3. Penentuan Angka TBA

Uji ini dipakai untuk menentukan tingkat ketengikan lemak. Biasanya bagian lemak yang tengik akan bereaksi dengan asam tiobarbiturat sehingga menghasilkan senyawa yang berwarna merah jambu.

Uji TBA ini merupakan uji spesifik untuk hasil oksidasi asam lemak tidak jenuh yang derajat ketidakterjenuhannya tinggi (asam lemak dengan ikatan rangkap 2 atau lebih). Pereaksi TBA dapat digunakan langsung untuk menguji lemak dalam suatu bahan tanpa mengekstraksi fraksi lemaknya.

8.2. Metode Penentuan

8.2.1 Penentuan Angka TBA menurut Suwetja (1989)

Tiga (3) macam prosedur penentuan kadar malonaldehid (Angka TBA)

Cara Pertama

Reagensia :

- Larutan TCA, 20 g TCA dalam 100 ml H₂O
- Larutan TBA, 0,02 M asam tiobarbiturat dalam 90% asam asetat glacial
- Larutan piridin-HCL. 43 g piridin-HCL dilarutkan dalam air, kemudian ditambahkan 8 ml 6 M HCl, lalu diencerkan menjadi 100 ml
- Campuran HCL, TCA dan piridin. 650 ml 0,6 M HCL + 50 ml TCA + 50 ml piridin HCL
- Pelarut organik petroleum eter.

Cara analisis :

- Daging ikan dilembutkan dengan blender tanpa penambahan air.
- Daging ikan lembut ditimbang 250 mg, lalu dimasukkan ke dalam labu godok.
- Lalu ditambahkan 4 ml H₂O, 5 ml piridin-HCL, 10 ml TCA dan 6 ml larutan TBA, lalu digodok dengan baik
- Kondensor dipasang tegak pada labu, lalu dipanaskan pada penangas air sampai mendidih
- Ditambah 75 ml campuran HCl-TCA-pirimidin melalui kondensor, lalu digodok dengan baik-baik dan teruskan pemanasan selama 10 menit
- Dinginkan pada suhu kamar, dan lepaskan kondensornya
- Warna homogenat merah jambu sampai merah akan muncul, tergantung pada derajat kerusakan lemak
- Sentrifugasi selama 5 menit pada 1800 rpm
- Supernatannya diambil 15 ml dan dimasukkan ke dalam tabung sentrifus yang lain
- Ditambahkan 10 ml petroleum eter, lalu godok selama 30 detik untuk memisahkan lemaknya
- Sentrifugasi 3 menit pada 120 rpm

- Fraksi petrolium eternya dibuang
- Fraksi non petrolium eternya dibaca absorbansinya pada spektrofotometer pada panjang gelombang 535 nm
- Sebagai blanko digunakan H₂O
- Kurve standart dibuat dengan menggunakan reagen 1,1,3,3-tetraoksiopropan. Reagen ini dilarutkan ke dalam 40% etanol sehingga konsentrasinya 0,0002-0,001 mol
- Catatan penggunaan reagen piridin berbahaya, oleh karena itu diusahakan memakai prosedur yang lain

Cara Kedua

Reagensia :

- Larutan 4 M HCL
- Larutan TBA; dilarutkan 0,67 g asam tiobarbiturat ke dalam 100 ml H₂O panas, lalu ditambahkan 100 ml asam asetat glacial

Cara analisis :

- Daging ikan ditimbang sebanyak 3 g, kemudian dilembutkan bersama 50 ml H₂O, sampai homogen
- Diatur pH antara 1,3-1,8 dengan 4 M HCL (\pm 2 ml), agar supaya malonaldehidnya dapat dibebaskan

- Dipindahkan ke dalam labu destilasi, dan ditambahkan ke dalamnya 1 ml bahan anti buih
- Didestilasi sampai mendapat destilat 50 ml
- Destilat di ambil 10 ml, lalu dimasukkan ke dalam erlenmeyer
- Lalu ditambahkan 2 ml larutan TBA, dan erlenmeyer ditutup, misalnya dengan lembaran aluminium foil
- Dipanaskan pada penangas air selama 35 menit, kemudian didinginkan pada air mengalir
- Absorbansinya dibaca pada spektrofotometer pada panjang gelombang 532 nm
- Balnko juga dibuat, di mana sampel diganti dengan H₂O

Cara Ketiga

Reagensia :

- Larutan TBA. 1 g asam tiobarbiturat dilarutkan ke dalam 0,1 N NaOH 75 ml dan diencerkan menjadi

Cara analisis :

- Daging ikan segar atau beku dengan berat tertentu dihomogenkan dalam air bebas ion pada volume yang sebanding dengan berat sampel

- Sejumlah larutan sampel tadi diambil lalu ditimbang dalam sebuah tabung reaksi yang mempunyai penutup berderat
- Tiga tetes larutan antioksidan, dan 3 ml larutan TBA ditambahkan kedalam tabung reaksi tersebut
- Sampel digoyang sampai homogen
- Larutan TCA-HCL sebanyak 17 ml, kemudian ditambahkan
- Oksigen dalam udara di atas sampel di dalam tabung reaksi dibuang dengan menggantikannya memakai gas N_2
- Dibuat kontrol
- Tabung-tabung sampel diisi dalam keranjang tabung reaksi lalu dipanaskan di dalam air mendidih selama 30 menit
- Tabung-tabung sampel tersebut kemudian didinginkan dengan air mengalir
- Sekitar 15 ml larutan sampel berwarna dipindahkan ke dalam tabung sentrifus 50 ml
- Sekitar 5 ml kloroform diisikan ke dalam tabung atau dikocok sampai homogen (beberapa detik)
- Sampel disentrifus selama 10 menit pada 10.000 G

- Homogenatnya dibaca absorbansinya pada spektrofotometer pada panjang gelombang 535 nm

Cara Perhitungan :

Angka TBA (mg malonaldehid/1 kg sampel) dihitung dengan cara: absorbance dari 1 kg sampel dalam 100 ml reagensia dikalikan faktor 46.

Catatan :

Kadangkala timbul warna larutan yang kuning dan bukan merah jambu atau merah. Hal ini disebabkan oleh adanya senyawa-senyawa pengganggu. Bila hal itu terjadi, maka angka TBA tidak dapat dihitung dengan cara di atas.

Cara Pembuatan Kurve Standart Tetraethoksipropan (TEP)

- Dibuat larutan stok TEP. 10 umol/ml, dengan melarutkan 110 mg TEP standar murni dalam 50 ml metanol
- Untuk membuat kurve standart, larutan TEP 5, 10, 15, 20 dan 25 umol/ml digunakan
- Tiap larutan TEP tersebut diperlakukan seperti prosedur analisis TBA di atas
- Diplot optical density dengan konsentrasi TEP yang digunakan

- Didapat Slope persamaan regresi linier. Konsentrasi sampel uji = OD sampel uji pada 535 nm/slope.

8.2.2 Penentuan Angka TBA menurut Apriyantono, dkk (1989)

- Ditimbang bahan sebanyak 10 gram dengan teliti, dimasukkan ke “waring blender”. Ditambahkan 30 ml akuades dan dihancurkan selama 2 menit
- Dipindahkan secara kuantitatif ke dalam labu destilasi sambil dicuci dengan 47,5 ml akuades
- Ditambahkan kurang lebih 2,5 ml HCL 4 M sampai pH menjadi 1,5
- Ditambahkan batu didih secukupnya untuk mencegah buih dan labu destilasi dipasang pada alat destilasi, destilasi dijalankan dengan pemanasan tinggi sehingga diperoleh 50 ml destilat selama pemanasan
- Destilat yang diperoleh diaduk merata, dipipet 5 ml destilat ke dalam tabung reaksi dan ditutup
- Kemudian ditambahkan 5 ml pereaksi TBA, ditutup lagi, lalu dihomogen, setelah itu dipanaskan dalam air mendidih selama 15 menit

- Balanko dibuat dengan cara memasukkan 5 ml akuades ke dalam tabung reaksi, ditambahkan 5 pereaksi TBA, lalu dikerjakan seperti pada penetapan sampel
- Larutan di dalam tabung reaksi didinginkan dengan air pendingin selama kurang lebih 10 menit, kemudian diukur absorbensinya (D) pada panjang gelombang 528 nm dengan larutan blanko sebagai titik nol. Sampel sel yang digunakan berdiameter 1 cm
- Perhitungan TBA dinyatakan dalam miligram malonaldehid per kilogram sampel. Bilangan TBA = 7,5 D.

8.2.3 Penentuan Angka TBA menurut Sudarmadji *et. al.* (2003)

Berdasarkan reaksi TBA (*1-thio-barbituric-acid*) dengan *malonaldehyde* yang dipakai sebagai penunjuk tingkat ketengikan.

- Timbang bahan (sebaiknya diketahui kadar airnya) sebanyak kira-kira 3 gram dengan teliti, masukkan ke dalam waring blender, tambahkan 50 ml akuades dan hancurkan selama 2 menit
- Pindahkan secara kuantitatif ke dalam labu destilasi 1000 ml sambil dicuci dengan 48,5 ml aquades.

- Tambahkan $\pm 1,5$ ml kira-kira 4 N HCL (1 bagian HCL pekat dalam 2 bagian air) sampai pH menjadi 1,5
- Tambahkan batu didih dan bahan pencegah buih (antifoam) sedikit dan pasanglah labu destilasi pada alat destilasi. Destilasi dijalankan dengan pemanasan setinggi mungkin sehingga diperoleh destilat sebanyak 50 ml selama pemanasan 10 menit
 - Aduklah destilat yang diperoleh, saring dan pindahkan 5 ml kedalam erlenmeyer 50 ml yang bertutup dan tambahkan 5 ml reagen TBA. Reagen TBA: larutan 0,002 M thobarbiturric-acid dalam 90% asam asetat glacial. Pelarut dipercepat dengan pemanasan di atas waterbath. Campurlah larutan baik-baik dan masukkan erlenmeyer tertutup dalam air mendidih selama 35 menit
 - Buatlah larutan blanko (prosedur sama tanpa bahan)
 - Setelah didinginkan dengan air yang mengalir, bacalah *optical density* dengan spectrophotometer pada panjang gelombang 528 nm dengan larutan blanko sebagai titik nol
 - Optical density (A = absorbancy) sebagai skala pembanding tingkat ketengikan.

$$\text{Rumus perhitungan harga TBA} = \frac{3 \times \text{Absorbansi} \times 7,8}{\text{Berat sampel (g)}}$$

8.2.4 Penentuan Angka TBA menurut Arpah (2007)

Penyiapan minyak ikan dengan metode rendering basah melalui beberapa tahapan yaitu ikan segar dikeluarkan insang dan isi perut, dicuci bersih lalu dikukus pada suhu 105°C selama 30 menit. Ikan dipres dalam keadaan panas dan dihasilkan 2 produk yaitu cairan (minyak dan air) dan padatan. Cairan dimasukkan dalam corong pemisah dengan tujuan memisahkan lapisan minyak (atas) dan lapisan air (bawah). Selanjutnya lapisan atas (minyak) disentrifuse pada 10.000 rpm, selama 10 menit dan dihasilkan minyak ikan kasar.

Sampel sebanyak 10 gram dimasukkan ke dalam waring blender, kemudian ditambahkan 50 ml akuades dan dilumatkan selama 2 menit. Secara kuantitatif dipindahkan ke dalam labu destilasi sambil dicuci dengan 47,5 ml akuades. Setelah itu ditambahkan 2,5 ml HCl 4M sampai pH 1,5 lalu ditambahkan batu didih dan pencegah buih secukupnya dan labu destilasi dipasang pada alat destilasi. Pemanasan dilakukan sedemikian sehingga diperoleh 50 ml destilat selama 10 menit. Destilat yang diperoleh diaduk lalu

dipipet sebanyak 5 ml ke dalam tabung reaksi. Kemudian ditambahkan 5 ml pereaksi TBA, dipanaskan selama 25 menit dalam air mendidih. Selanjutnya didinginkan selama 10 menit kemudian dibaca absorbansinya pada λ 528 nm dengan larutan blanko sebagai titik nol. Blanko terdiri dari 5 ml akuades dan 5 ml pereaksi yang disiapkan seperti persiapan sampel. TBA dinyatakan dalam mg malonaldehid per kg sampel.

Perhitungan bilangan TBA dalam sampel menggunakan rumus (Arpah, 2007).

$$\text{Bilangan TBA} = \frac{3}{\text{Berat sampel}} \times \text{Absorbansi} \times 7,8$$

Keterangan :

TBA : *Thiobarbituric Acid* (mg malonaldehid per kg sampel)

Absorbansi : Nilai absorbansi pada panjang gelombang

8.3. Hasil-hasil Penelitian

8.3.1 Hasil Analisis Angka TBA (Suwetja, 1986)

Penulis telah melakukan penelitian tentang kerusakan lipida ikan dan udang di Universitas Kajoshima Jepang pada Studi Master pada Tahun 1984-1986.

8.3.2 Hasil Analisis Angka TBA Ham Cakalang (Dotulong, V., S. Berhimpon, I K, Suwetja, dan A. Apriyantono, 1996)

Data hasil analisa angka asam thiobarbiturat atau thiobarbituric (TBA) dapat dilihat pada Tabel 8.1 di bawah ini.

Tabel 8.1. Data hasil analisa angka TBA Ham Cakalang

Pemberian asam askorbat	Cara pengemasan plastik	Lama penyimpanan (hari)	Angka TBA (mg MA/Kg sampel)	
			1	2
Tanpa asam askorbat	Tanpa vakum	0	3,1	2,7
		7	569	7,0
		14	20,7	18,2
	vakum	21	22,8	22,3
		0	2,7	2,7
		7	3,8	4,0
Asam askorbat 2%	Tanpa vakum	14	4,6	4,5
		21	16,0	15,5
		0	2,6	2,5
	vakum	7	4,8	4,7
		14	15,2	12,5
		21	10,0	10,3
	vakum	0	2,5	2,4
		7	3,6	3,9
		14	4,3	4,3
		21	5,7	5,7

Dari data tersebut terlihat yang tertinggi dijumpai pada ham cakalang yang diberi perlakuan tanpa askorbat, pengemasan plastik tanpa vakum dan lama penyimpanan 21 hari, yaitu 22,6 mg MA/KG sampel, sedangkan rata-rata

angka TBA terendah yaitu 2,4 mg MA/KG sampel, adalah pada ham cakalang yang diberi perlakuan asam askorbat 2%, pengemasan vakum, dan lama penyimpanan 0 hari.

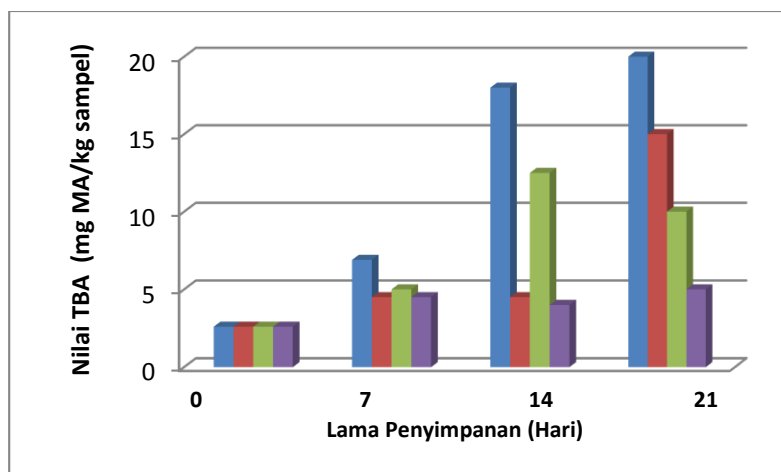
Hasil analisis sidik ragam data TBA dan hasil uji lanjut Duncan dapat dilihat pada Tabel 8.2.

Tabel 8.2. Analisa sidik ragam nilai TBA Ham Cakalang

Sumber keragaman	DB	Jumlah Kuadrat	Kuadrat Tengah	Nilai F		
				Hitung	0,05	0,01
Pemberian asam askorbat (A)	1	120,98	120,98	224,04**	4,49	8,53
Cara pengemasan (B)	1	189,93	189,93	351,72**	4,49	8,53
Lama penyimpanan (C)	3	620,21	206,74	382,85**	3,24	5,59
Interaksi :						
AB	1	9,57	9,57	17,72**	4,49	8,53
AC	3	157,92	52,64	97,48**	3,24	5,29
BC	3	172,15	57,38	4,24**	3,24	5,29
ABC	3	6,88	2,29	4,24**	3,24	5,29
Galat	16	8,26	0,54			

Ham yang diberi asam askorbat 2% dan dikemas secara vakum selama penyimpanan (Gambar 8.1) mengalami kenaikan angka TBA lebih perlahan yaitu sampai hari penyimpanan ke-21 angka TBA-nya baru 5,7 mg MA/kg sampel, sedangkan ham tanpa asam askorbat dan kemasan tanpa vakum pada penyimpanan hari ke 21 mempunyai angka TBA 16,4 mg MA/kg sampel. Ini sesuai dengan nilai

rasa yang menunjukkan bahwa ham yang diberi asam askorbat dan tidak dikemas secara vakum mulai mempunyai rasa yang tidak enak pada penyimpanan 21 hari. Hal ini disebabkan karena kerja asam askorbat sebagai antioksidan yang dapat menghentikan reaksi berantai pada pembentukan radikal dengan melepaskan hidrogen dari antioksidan (Winarno, 1988), sedangkan pengemasan vakum mencegah kontak produk dengan oksigen sehingga menghambat oksidasi lipid di dalam daging ikan.



Gambar 8.1. Ham yang diberi asam askorbat 2% dan dikemas secara vakum selama penyimpanan.

Pernyataan-pernyataan ini didukung oleh khayat dan Schwall (1983) yang menyatakan bahwa cepat lambatnya oksidasi lipid di dalam daging ikan dipengaruhi oleh kontak antara lemak di dalam daging dengan komponen yang mempercepat atau menghambat oksidasi lipid. Dari Gambar juga dapat dilihat bahwa ham cakalang tanpa asam askorbat dan dikemas secara vakum mampu memperlambat oksidasi lipid sampai penyimpanan ke 14 yaitu angka TBA-nya baru 4,6 mg MA/kg sampel. Hal ini kemungkinan disebabkan karena walaupun tanpa asam askorbat, tetapi kemasan vakum mampu menghambat oksidasi lipi selama penyimpanan karena tekanan oksigen pada permukaan produk rendah. Ini didukung oleh pernyataan khayat dan Schwall (1983) bahwa oksidasi lipid meningkat dengan naiknya tekanan oksigen, karena itu pengemasan dan pengeluaran udara dapat menghambat ketengikan. Ini juga sesuai dengan laporan Suzuki (1985) yang menyatakan bahwa “Oxigen absorber” memiliki efek mencegah kehilangan asam eikosa pentanoat (EPA) dan dokosaheksanoat (DHA) selama penyimpanan.

8.3.3 Hasil Analisis Angka TBA (Paparang, R., I K Suwetja, B. Kaseger, dan Kusen J., 2007)

Tingkat oksidasi dendeng ikan layang giling diukur berdasarkan uji TBA (Thiobarbituric Acid) dan data pengaruh perlakuan terhadap nilai TBA dapat dilihat pada Tabel 8.4. Dari data tersebut terlihat bahwa nilai rata-rata TBA pada lama penyimpanan 0, 5, 10, 15 dan 20 hari menunjukkan peningkatan dengan semakin lamanya penyimpanan. Nilai rata-rata TBA tertinggi diperoleh pada penambahan lemak-margarin 0% dengan lama penyimpanan 20 hari yaitu 7,73 mg MA/kg sampel dan nilai rata-rata terendah yaitu 1,76 mg MA/kg sampel diperoleh pada penambahan lemak-margarin 0% dengan lama penyimpanan 0 hari. Hubungan antara penambahan lemak-margarin dan lama penyimpanan pada suhu kamar terhadap nilai TBA dendeng ikan layang giling, dapat dilihat pada Gambar 8.2.

Hasil analisis sidik ragam menunjukkan bahwa penambahan lemak-margarin menunjukkan pengaruh yang nyata ($p < 0,05$) dan lama penyimpanan pada suhu kamar menunjukkan pengaruh yang sangat nyata ($p < 0,01$), sedangkan interaksi antara kedua perlakuan menunjukkan pengaruh yang tidak nyata ($p > 0,05$) terhadap nilai TBA

dendeng ikan layang giling (Tabel 8.3). Data awal terdapat pada Tabel 8.4.

Tabel 8.4. Hasil Analisis Sidik Ragam Pengaruh Perlakuan Terhadap Nilai TBA Dendeng Ikan Layang Giling

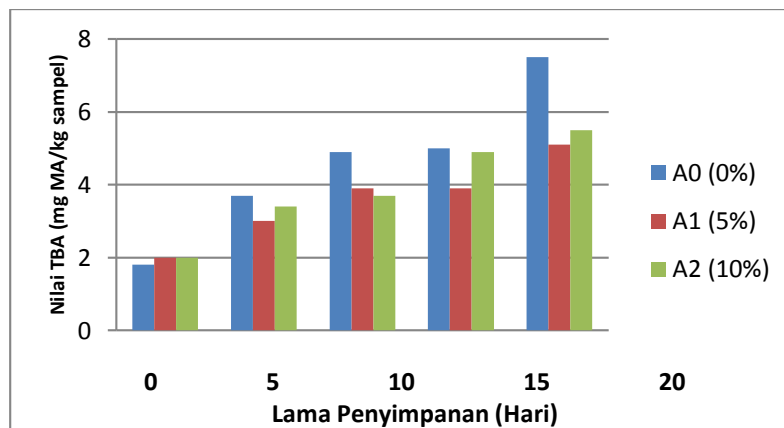
Sumber Keragaman	DB	JK	KT	F _{Hitung}	F _{Tabel}	
					0,05	0,01
Perlakuan	14	63,4775	1,9687	5,6216*	3,68	6,36
Faktor A	2	3,9373	15,0400	42,9469**	3,06	4,89
Faktor B	4	60,1599	0,6725	1,9203 ^{tn}	2,64	4,00
Interaksi AB	8	5,3803	0,3502			
Galat	15	5,2530				
Total	29	74,7305				

Keterangan : ^{tn} tidak nyata
 * berbeda nyata
 ** berbeda sangat nyata

Hasil uji lanjut BNT antar perlakuan penambahan lemak-margarin menunjukkan bahwa penambahan lemak-margarin 5% mempunyai nilai rata-rata TBA yang lebih kecil yaitu 3,60 mg Ma/kg sampel dan pengaruh nyata ($P < 0,01$) dengan penambahan lemak-margarin 0% dan tidak nyata dengan penambahan lemak margarin 10%.

Pada perlakuan penambahan lemak-margarin 0%, meskipun tidak ada lemak-margarin yang ditambahkan namun mempunyai nilai rata-rata TBA yang lebih tinggi, yaitu 4,48 mg MA/kg sampel dan berpengaruh nyata

($p < 0,05$) dengan perlakuan penambahan lemak-margarin 0%. Kemungkinan hal ini disebabkan karena lemak yang ada pada dendeng ikan layang giling pada penambahan lemak-margarin 0% lebih banyak mengandung asam lemak tak jenuh, dimana menurut Ketaren (1986) dan Sikorski (1990), asam lemak tak jenuh lebih sensitif terhadap oksidasi.



Gambar 8.2. Hubungan antara penambahan lemak-margarin dan lama penyimpanan pada suhu kamar terhadap nilai TBA dendeng ikan layang giling

Untuk lama penyimpanan pada suhu kamar, hasil uji BNT menunjukkan bahwa lama penyimpanan 20 hari mempunyai nilai rata-rata TBA yang tertinggi yaitu 6,23 mg MA/kg sampel dan berpengaruh sangat nyata ($p < 0,01$) dengan lama penyimpanan 0, 5, 10 dan 15 hari. Nilai rata-rata terendah diperoleh pada lama penyimpanan 0 hari yaitu 2,02

mg MA/kg sampel dan berpengaruh sangat nyata ($p < 0,01$) dengan semua perlakuan penyimpanan lainnya. Meningkatnya nilai TBA tersebut selain karena bertambahnya waktu, menurut Winarno (1980) dan Ketaren (1986), tumbuhnya kapang pada produk juga dapat meningkatkan hasil oksidasi.

Menurut Anonymous (1994), nilai TBA untuk ikan mentah yang kualitasnya masih baik lebih kecil dari 3 mg MA/kg sampel, sedangkan untuk tepung ikan yang masih baru nilai TBA-nya sekitar 20 mg MA/kg sampel. Jika dibandingkan dengan nilai kadar lemak pada kombinasi-kombinasi perlakuan lainnya, maka kombinasi perlakuan penambahan lemak-margarin 5% dengan lama penyimpanan 5 hari merupakan kombinasi perlakuan yang terbaik karena walaupun nilai rata-rata kadar lemaknya tinggi yaitu 13,18%, tapi mempunyai nilai-rata-rata TBA yang terendah.

Tabel 8.4. Data Pengaruh Perlakuan Terhadap Nilai TBA Dendeng Ikan Layang Giling

Penambah an Lemak- Margarin (A)	Lama Penyimpanan Pada Suhu Kamar (B)	Ulangan		Total	Rata- rata	Rata- rata
		1	2			
A0	B0	1.73	1.79	3.52	1.76	
	B1	3.25	3.42	6.67	3.335	
	B2	4.12	5.02	9.14	4.57	
	B3	4.45	5.52	9.97	4.985	
	B4	6.82	8.63	15.45	7.725	
						4.48
A1	B0	2.59	1.68	4.27	2.135	
	B1	3.27	2.42	5.69	2.845	
	B2	4.23	3.35	7.58	3.79	
	B3	4.43	3.63	8.06	4.03	
	B4	5.48	4.93	10.41	5.205	
						3.60
A2	B0	2.41	1.89	4.3	2.15	
	B1	3.28	3.03	6.31	3.155	
	B2	4.34	3.14	7.48	3.74	
	B3	4.81	4.65	9.46	4.73	
	B4	5.96	5.54	11.5	5.75	
						3.91

8.3.4 Hasil Analisis Angka TBA (Ibrahim Y, I K. Suwetja dan F. Mentang, 2015)

Data hasil analisis angka TBA pada minyak ikan tongkol dan ikan lele dapat dilihat pada Tabel 8.4. Angka TBA pada berbagai perbandingan campuran minyak ikan tongkol dan lele pada penelitian ini berkisar 0.98 – 1.19 mg malonaldehid/kg. Hasil terendah terdapat pada perlakuan C

(1 ml : ½ ml) yaitu sebesar 0,98 mg malonaldehid/kg dan tertinggi terdapat pada perlakuan A (1 ml : 1 ml) yaitu 1,37 meq/kg. Nilai TBA ini masih stabil, dimana nilainya kecil dari 3 mg malonaldehid/kg. Mengacu pada pernyataan Dawson (1978), menyatakan bahwa batas tertinggi nilai TBA untuk produk yang masih bisa dikonsumsi oleh manusia sebaiknya kurang dari 3 mg malonaldehid/kg.

Hasil analisis ragam menunjukkan bahwa perbandingan campuran minyak ikan tongkol dan lele memberikan pengaruh sangat nyata ($P < 0,01$) terhadap nilai TBA. Hasil uji BNJ bahwa perlakuan A (1 ml : 1 ml) berbeda nyata dengan perlakuan B (1 ml : ¾ ml) dan perlakuan C (1 ml : ½ ml), perlakuan B (1 ml : ¾ ml) tidak berbeda dengan perlakuan C (1 ml : ½ ml). Hal ini diduga bahwa kandungan MUFA pada minyak ikan lele dapat mempengaruhi oksidasi sekunder.

Stabilitas oksidasi asam lemak sangat tergantung pada jumlah ikatan rangkapnya, selain itu dipengaruhi juga oleh suhu, konsentrasi oksigen, logam, aktivitas air, prooksidan, antioksidan dan katalis. Reaksi oksidasi terjadi melalui beberapa tahap yaitu tahap inisiasi, tahap propagasi dan terminasi. Radikal bebas yang terbentuk pada tahap awal

reaksi (tahap inisiasi) dapat bereaksi dengan oksigen dan menghasilkan senyawa peroksida (Kusnandar, 2010). Minyak yang kontak langsung dengan udara dan suhu tinggi mengakibatkan asam lemak tidak jenuh terurai. Rantai karbon dalam ikatan rangkap terputus sehingga asam lemak bebas bertambah. Rantai karbon yang terputus berikatan dengan oksigen sehingga peroksida minyak juga bertambah (Gunawan *et. al.*, 2003).

8.3.5 Analisis Bilangan TBA pada Ikan Cakalang Asap (*Katsuwonus pelamis*, L.); (Ahmad R. Rasyid, F. Mentang dan I K. Suwetja, 2015)

Data hasil analisa angka TBA (Thiobarbituric Acid) dapat dilihat pada table 8.5. Data tersebut memperlihatkan bahwa angka TBA yang tertinggi adalah 3,9 mg MA/kg dijumpai pada ikan cakalang asap yang diambil dari lokasi pasar Sario untuk pedagang B. Sedangkan untuk hasil angka TBA yang terendah adalah 1,56 mg MA/kg dijumpai pada ikan cakalang asap yang diambil dari lokasi tempat pengolahan ikan cakalang asap di Desa Girian Kota Bitung.

Tabel 8.5. Angka asam thiobarbituric acid (TBA) ikan cakalang (*Katsuwonus pelamis*, L.) Asap.

Lokasi Sampel	Angka TBA (mg MA/kg)		StDev
	I	II	
Tempat Pengolahan (Desa Girian Bitung)	1,56	1,56	1,56±0
Pasar Sario (Pedangan A)	2,34	2,34	2,34±0
Pasar Sario (Pedagang B)	4,68	3,12	3,9±1,10

Hasil penelitian nilai TBA pada ikan Cakalang (*Katsuwonus pelamis* L.) Asap yang diambil dari 3 (tiga) lokasi menghasilkan nilai TBA yang berbeda-beda dari setiap lokasi. Dimana untuk lokasi yang pertama yaitu pada tempat pengolahan Ikan Cakalang Asap di Desa Girian Kota Bitung memiliki nilai TBA sebesar 1,56 mg MA/kg baik pada ulangan pertama dan ulangan kedua, sedangkan sampel dari lokasi kedua yaitu Pasar Sario untuk pedagang A menghasilkan nilai TBA sebesar 2,34 mg MA/kg baik pada ulangan yang pertama dan ulangan yang kedua. Sementara untuk lokasi ketiga yaitu pada lokasi yang sama dengan lokasi kedua yaitu pasar Sario untuk pedagang B menghasilkan nilai TBA yang paling tinggi dari semua lokasi pengambilan sampel, dimana pada ulangan yang pertama menghasilkan nilai TBA sebesar 4,68 mg MA/kg sedangkan untuk ulangan kedua mendapatkan nilai TBA sebesar 3,12 mg MA/kg.

DAFTAR PUSTAKA

- AOCS. 1990. **Official Methods and Recommended Practices of the American Oil Chemistry Society**. 4ed. Champaign. Illinois.
- Apriyanto, A., D. Fardiaz, Ni Luh Puspitasari, Sedarmawati dan S. Budiyanto. 1989. **Analisa Pangan**. PAU Pangan dan gizi. IPB. Bogor.
- Apriyanto, A., D. Fardiaz, Ni Luh Puspitasari, Sedarmawati dan S. Budiyanto. 1989. **Analisis Pangan**. PAU Pangan dan Gizi. IPB. Bogor.
- Arpah, M. 2007. **Penetapan Kedaluwarsa Pangan**. Departemen Ilmu dan Teknologi Pangan. IPB. Bogor.
- Azudin, M.N., and Saari. 1986. **Histamin Content in Fermented Andcured Fish Products in Malaysia. Paper Presented at the Indo-Pacific Fishery Communion Working on Fish Technology and Marketing**. Bangkok. 1988. FAO Fisheries Rep. 401 Supplement.
- Berhimpon, S., 1982. **Pengaruh Perendaman Filet di Dalam Larutan Garam dan Asam Asetat Terhadap Kandungan Urea dan Mutu Daging Ikan Hiu Selama Penyimpanan Beku**. IPB. Bogor.
- Borgstrom, G. 1961. **Fish as Food**. (Volume I). Production, Biochemistry, and Microbiology. Academic Press INC. London.

- Chang, O., W.L. Cheuk, R. Nickelson, R.Martin and G. Finne. 1983. **Indole in Shrimp: Effect of Fresh Storage Temperature, Freezing and Boiling**. J. Food Science. 48. 813-816.
- Cobb, B.F. and C. Vanderzant. 1975. **Development of a Chemical Test for Shrimp Quality**. J. Food Science. 40. 121-124.
- Daloma, M., I K. Suwetja, dan J. Pongoh. 2006. **Penentuan Rigor Indeks, pH dan TVBN Beberapa Jenis Ikan Laut**. Paper. FPIK UNSRAT.
- Damongilala, L.J., S. Berhimpon, I K.Suwetja dan I.F.M. Rumengan. 1999. **Perubahan Kandungan Histamine Ikan Tongkol Yang Disimpan Pada Suhu Es dan Ruang, Dikaitkan Dengan Keberadaan Bakteri *Proteus* sp dan *Pseudomonas*, sp**. Tesis. Program Pascasarjana. UNSRAT.
- Dawson, S.P. 1978. **Acids in Different Sites in Blue Mackerel Fillets**. J. Food Sci.
- Dotulong, V., S, Berhimpon, I K. Suwetja, A. Apriyantono. 1996. **Pengaruh Pemberian Asam Askorbat, Cara Pengemasan Plastik dan Lama Penyimpanan Pada Suhu Dingin Terhadap Oksidasi Lipid Ham Cakalang**. Tesis. Program Pascasarjana. KPK IPB-UNSRAT. Ibrahim, Y., I K. Suwetja, F. Mentang. 2015.

- Dotulong, V., S. Berhimpon, I K. Suwetja, A. Apriyantono. 1996. **Pengaruh Pemberian Asam Askorbat, Cara Pengemasan Plastik dan Lama Penyimpanan Pada Suhu Dingin Terhadap Oksidasi Lipid Ham Cakalang.** Tesis. Program Pascasarjana. KPK IPB-UNSRAT.
- Ehira, S. 1976. **A Biochemical Study on the Freshness of Fish.** Bull. Tokai Reg. Fish. Res. Lab. 88, 1-127 (in Japanese).
- Ehira, S., N. Kato, and H. Uchiyama. 1972. **Survey of Freshness of Fish at the Time of Landing at 10 Fishing Ports.** Bull. Tokai Reg. Fish. Res. Lab. 69, 107-123 (in Japanese).
- Fatima, R., and R.B. Qadri. 1985. **Qualiti changes in Lobster Muscle During Storage in Ice.** J.Agric. Food chem.. 33. 117-122.
- Gopakumar, K., P.K. Surendran and P.K. Vijayan. 1988. **Insidence of Histamine Decarboxilating Bacteria and Histamine Levelin fish sold in Retail Markets. Paper Presented at the Indo-Pacificfishery Communion Working on Fish Technology and Marketing.** Bangkok. 1988. FAO Fisheries Rep. 401 Supplement.
- Hadiwiyoto, S. 1993. **Teknologi Pengolahan Hasil Perikanan.** Jilid I. Liberty. Yogyakarta.

- Hebard, C.E., G.J. Flick and R.E. Martin. 1980. **Occurrence and Significance of TMAO and its Derivatives in Fish and Shellfish. In Chemistry and Biochemistry of Marine Food Products.** Edited by: Martin, R.E., G.J. Flick, C.E. Hebard and D.R. Ward. AVI Publishing Company. Connecticut. USA. Pp.149-273.
- Ibrahim, Y., I K. Suwetja, F. Mentang. 2015. **Stabilitas Oksidasi Campuran Minyak Ikan Tongkol Kaya PUFA dan Ikan Lele Kaya MUFA.** Tesis. Program Pascasarjana. UNSRAT.
- Infofish.1987. **Histamin Poisoning.** Infofish Marketing Digest. 2 (87): 38-39.
- Karmas, E., and J.L. Mietz. 1978. **Polyamine and Histamine Content of Tuna Fish and Relationship to Decomposition.** J. Food Sci. & Technol. 11:333-337.
- Ketaren, S., 1986. **Minyak dan Lemak Pangan.** UI. Jakarta.
- Khayat, S., and D. Scwaal. 1983. **Lipid Oxidation Sea Food Tech.** (7): 137-139.
- Kimata, M., 1961. **The Histamine Problem in Fish as Food.** Vol.I. New York. Academic Press.
- Kumolontang N.P., I K. Suwetja, H. Onibala. 2013. **Pengaruh Konsentrasi Tepung Kelapa dan Lama Penyimpanan pada Suhu Dingin Terhadap Daya Awet Nugget Ikan Kakap Putih, *Lates calcarifer*.** Tesis. Program Pascasarjana. UNSRAT.

- Laboratorium Pembinaan dan Pengujian Mutu Hasil Perikanan (LPPMHP) Propinsi Sulawesi Utara. 2004. Prosedur Uji Histamin.
- Lubis, S., I K. Suwetja, dan L. Damongilala. 1998. **Kadar Urea Pada Daging Ikan Cucut Yang Direndam Pada Air Panas, Air Garam dan Asam Cuka**. Paper. FPIK. UNSRAT.
- Manggaprouw, A.E., R.I. Montolalu, dan I K. Suwetja. 2014. **Kajian Mutu Ikan Tongkol Segar di Pasar Bahu Kelurahan Bahu Kecamatan Malalayang Kota Manado**. Paper. FPIK. UNSRAT.
- Martin, D.W., P.A. Mayes and V.W. Rodwell. 1984. **Biokimia**. EGC- Kedokteran Indonesia.
- Masayo, O., O. Shozo and A. Masaishi. 1981. **Isolated of Psychrophilic Histamine Forming Bacteria from *Scomber japonicas***. Bull. Japan. Soc. Sci. Fish. Japan. 47 (12): 1591-1598.
- Mulyanto, 1986. **Pengawetan dan Pengolahan Hasil Perikanan**. PT. Penebar Swadaya. Jakarta.
- Nara, S.M., F.G. Ijong, I K. Suwetja, H. Onibala. 2013. **Karakteristik Mutu Mikrobiologis dan Biokimiawi Produk Olahan Tradisional Ikan Asin Basah (ina sua) dari Kepulauan Maluku Tengah**. Tesis. Program Pascasarjana. UNSRAT.
- Nasran, 1989. **Masalah Mutu Kesegaran Ikan Tuna dan Deversifikasi Pengolahannya**. Makalah Lokakarya Perikanan Tuna, Warta Mina. Jakarta.

- Nishimoto, J.I., I K. Suwetja and H. Miki. 1985. **Estimation of Keeping Freshness Period and Practical Storage Life at Low Temperatures**. J.Fac. of Fish. Kagoshima Univ. Japan.
- Paparang, R.W., I K. Suwetja, Kaseger, B.E., dan J.D. Kusen. 2007. **Pengaruh Penambahan Lemak Margarine dan Lama Penyimpanan Terhadap Kadar Air, Citarasa, Tingkat Ketengikan, Tekstur, dan Jumlah Kapang dari Dendeng Ikan Layang Giling**. Tesis. Program Pascasarjana. UNSRAT.
- Ragelis, E.P.. 1984. **Seafood Toxins**. Toxicology of Scombroid Poisoning. American Chemical Society. Washington, DC.
- Rasjid, A.R., F. Mentang dan IK. Suwetja. 2015. **Studi Tentang Oksidasi Lipida Ikan Cakalang (*Katsuwonus Pelamis*, L.) Asap Yang Dipasarkan di Kota Manado**. Skripsi. Universitas Sam Ratulangi. Manado.
- Regenstein, J.M., J. Spinelli, and B. Koury. 1983. **Non Enzymatic Formation of Dimethylamine in Dried Fishery Products**. J. Agric. Food Chem. 27. 1104-1108.
- Ronald, R., E. Miller, H.O. Joseph and W. Wallis. 1979. **Histamin in Fish Microbiological and Biochemical Conditions**. Dep. Food Sci. Univ. Georgia. Athena.
- Saito, T., K.Arai and M. Matsuyoshi. 1959. **A New Method for Estimating the Freshness of Fish**. Bull. Japan. Soc. Sci. Fish. 24. 749-750.

- Sally, H.A., R.S. Frice, and W. Brown. 1980. **Histamine Formatting by Bacteria Isolated From Skipjack Tuna**. Bull. Japan. Soc. Sci. Fish. 46.(8). 991-995.
- Seke, D. C., I K. Suwetja, dan H. Onibala. 2005. **Aplikasi Es Air Kelapa Terhadap Lama Penyimpanan Ikan Layang Dihubungkan Dengan Tingkat Kemunduran Mutu**. Tesis. Program Pascasarjana. UNSRAT.
- Seke, D.C., I K. Suwetja, dan H. Onibala. 2005. **Aplikasi Konsentrasi Es Air Kelapa Terhadap Lama Penyimpanan Ikan Layang Dihubungkam Dengan Tingkat Kemundur Mutu**. Tesis. Program Pascasarjana, UNSRAT.
- Serpara, S.A., I K. Suwetja, S. Berhimpon, R.I. Montolalu. 2013. **Studi Penggunaan Es Ekstrak Rumput Laut Sebagai Media Pengawet Ikan Layang**. Tesis. Program Pascasarjana. UNSRAT.
- Serpara, S.A., I K. Suwetja, S.Berhimpon dan R.I. Montolalu. 2013. **Studi Penggunaan Es Ekstrak Rumput Laut, Caulerpa racemosa, Sebagai Media Pengawet Ikan Layang, Decapterus sp.** Tesis. Program Pascasarjana. UNSRAT.
- Sikorski, E.Z. 1991. **Seafood Resoueces. Nutritional Composition and Preservation**. CRC Press, Inc. Florida.
- Sikorski, Z.E. 1990. **Seafood: Resources, Nutrition, Composition and Preservation**. CRC Press. Inc. Boca Raton. Florida.

- SNI 01-3555-1994. **Cara uji minyak dan lemak.** Dewan Standardisasi Nasional.
- Suwetja, I K. 1986. **Study on Analysis of Freshness Lowering and Storage Life of Mackerel and Shrimp Muscle Under Low Storage Temperature.** Tesis. Fac. Of Fisheries Kagoshima University. Japan.
- Suwetja, I K., K. Ito, K. Miyazawa, M. Kayama and C. Hatanaka. 1989. **Comparative Study on Freshness and ATP Breakdown Products in Fish and Marine Invertebrates.** Desertation. Graduate School of Biosphere Sciences. Hiroshima University. Japan.
- Suwetja, I K., 1986. **Studies on Analysis Freshness Lowering and Storage Life of Mackerel and Shrimp Muscle Under Low Storage Temperatures.** Thesis. Faculty of Fisheries Kagoshima University Japan.
- Suwetja, I K., 1993. **Metode Penentuan Mutu Ikan.** Jilid I. Penentuan Kesegaran. Diktat. Fakultas Perikanan. UNSRAT.
- Suwetja, I K., 1993. **Metode Penentuan Mutu Ikan.** Jilid I. Penentuan Kesegaran. Fakultas Perikanan UNSRAT.
- Suwetja, I K., 2006. **Hasil Analisis Nilai-K Ikan Tuna Madidihang dan Ikan Cakalang Selama 14 Hari Pengesan.**
- Suwetja, I K., 2013. **Indeks Mutu Kesegaran Ikan Berkandungan Hasil-Hasil Penelitian.** Bayumedia Publishing. Malang. Buku. ISBN: 978-602-7705-46-3.

- Suwetja, I K., 2013. **Indeks Mutu Kesegaran Ikan, Berkandungan Hasil-hasil Penelitian**. Bayumedia Publishing. Malang. 88 halaman.
- Suwetja, I K., J.I. Nishimoto, Z. Oshiro, and H. Miki. 1986. **Study on Analysis of Freshness Lowering and Storage Life of Mackerel and Shrimp Muscle Under Low Storage Temperatures**. Thesis. Food Preservation Science. Faculty of Fisheries. Kagoshima University. Japan.
- Suwetja, I K., Kanji Hori, Keisuke Miyazawa, and Keiji Ito. 1989. **Changes in Content of ATP-related Compounds, Homarine and Trigonelline in Marine Invertebrates During Ice Storage**. Nippon Suisan Gakkaishi. 55(3), 559-566.
- Syamsuddin dan H.R. Dewoto. 1995. **Histamin dan Anti Alergi Dalam Farmakologi dan Terapi**. Bag. Farmakologi, Fak Kedok. UI.
- Syamsuddin. 1980. **Farmakologi dan Terapi**. Edisi 2. Bag. Farmakologi Fak. Kedokteran UI. Jakarta.
- Taylor, S., M. Letherwood, and E.R. Lieber. 1978. **A Simplified Method for Histamine Analyses of Food**. J. Food Sci. 43: 247-250.
- Tirajoh, J., J. Pontoh-H., I K. Suwetja dan H. Lohoo. 1995. **Kadar Urea Pada Ikan Cucut Asap**. Paper. FPIK. UNSRAT.
- Tokunaga, T. 1974. **The Effect of Decomposed Products of TMAO on Quality of Frozen Alaska Pollock Fillet**. Bull. Japan. Soc. Sci. Fish. 40. 167-174.

- Uchiyama, H., S. Ehira, H. Kobayashi, and W. Shimizu. 1970. **Significance in Measuring TVBN, TMA and Nucleotides in Fish Muscle as Indices of Freshness of Fish.** Bull. Japan. Soc. Sci, Fish. 36. 177-187.
- Warsito, Y., I K. Suwetja, dan A. Watung. 2011. **Daya Awet Ikan Rahiang, *Etelis carbunculus* Segar Selama Pengesan.** Paper. FPIK UNSRAT.
- Wei, C.I., C.M. Chen, J.A. Koburger, W.S. Otwel, and M.R. Marshall. 1990. **Bacterial Growth and Histamine Production Vacuum Packaged Tuna.** J.Fod Sci. 55(1): 59-63.
- Winarno, F.G., dan S.L. Jenie. 1982. **Kerusakan Bahan Pangan dan Cara Pencegahannya.** IPB. Bogor.
- Winarno, F.G., S. Fardiaz, dan D. Fardiaz. 1991. **Kimia Pangan dan Gizi.** PT. Gramedia Pustaka Utama. Jakarta.
- Wonggo, D., S. Berhimpon, I K. Suwetja dan F. Rungkat-Z. 1995. **Pengaruh Perendaman Filet Ikan Dalam Air Kelapa Terhadap Kandungan Histamine.** Tesis. Program Pascasarjana. KPK IPB-UNSRAT.

INDEX

A

Asam borat
Achromobacter
Absorbance
Aeromonas
Adenosine-5 diphosphate
Alfa-ketoglutarate
Aldehyde
Alkohol
Alkoksi
Antioksidan
Ammonia
Arginase
Argininsuccinate
Asam amino
Asam borat
Asam cyanuric
Asam chlorida
Asetildehid
Asam fosfat
Asam galat
Aspartat
ATP
Autolisi

B

Basa
Buthyl-hidroksida anisol
(BHA)
Buthyl-hidroksida toluene
(BHT)

C

Carbonylphosphat
Citrulline
Cystein
Clostridium perfringens
Clostridium botulinum
Coliform

D

Deteriorasi
Diamine-oksidadase
Deaminase
Decapterus
Dekarboksilase
Dimethylamine

E

E. coli
Endogenous
Enzyme
Enterobacter
Escherichia
Alasmobranchii
Euthynusaffinis

F

Fenol
Formaldehida
Free Fatty Acid
Fosfat

G

Glikogen
Glutamate dehydrogenase

H

Hafnia alfei
Hemirhamphussp
Histamin
Histidin
Hypoxanthine

I

Imidazol acetic acid
Indol
Inosin
IMP

K

Katsuwonuspelamis L.
Karbonil
Katekol
Klebsiella pneumonia

L

Lactobacillus

M

Malonialdehyde
Methanol
Mesofilik
Methyl tranferase
Methyl imidazol
Mioglobin

N

Nucleotida
NPN
Nilai-K

O

Oksidasi
Oksidoreduktase
Oto-oksidasi
Ornithine
Ortho-ptalatdikarboksilaldehyde

P

Patogen
Panulinpolyphagus
Penaeus japonicas
P. monodon
p-dimethyl benzaldehyde
Peroksida
Propilgalat
Proximate
Proteus moganii
Photobacteriumsp
Photassiumkarbonat
pH
Pseudomonas

R

Radikal
Rancidity
Rigor

S

Salmonella spp
Staphylococcus
Spektrofotometer
Shigellasp
Serratiamarcescens

T

TBA
TCA
TMA-N
TMA-O
Tri methyl amine
Trimethylaminoksida
TVB-N
Tokoferol
Tertbutyl hydroquinone
Thiobarbituric acid
Tris buffer
Thunusalbacaes

U

Urea
Urease

V

Vibrio sp
V. parahaemoliticus

TENTANG PENULIS

Penulis Utama



Prof. Dr. Ir. I Ketut Suwetja, M,Sc telah mengikuti pendidikan di Akademi Usaha Perikanan (AUP) Jakarta pada tahun 1971, sebagai Ahli Pengolahan Hasil Perikanan. Setelah tamat, menjadi karyawan PN. Perikani di Aertembaga Bitung, Sulawesi Utara tahun 1971 – 1977. Pada kurun waktu tersebut, memperoleh ijazah AMKPL II, MD, DAN MMD. Kemudian menjadi Guru SUPM Negeri Manado pada tahun 1977–1978. Pendidikan Formal S-1 Pengolahan Hasil Perikanan Universitas Sam Ratulangi, 1981. S-2 di Faculty of Fisheries Kagoshima University Jepang, spesialisasi Penanganan dan Pengolahan Hasil Laut, 1986. S-3 di Faculty of Applied Biological Science, Hiroshima University, Jepang, pada bidang studi Biokimia Hasil Laut, 1989. Post Doctoral pada: Ryukyus University, Okinawa Jepang pada tahun 1993, Carleton University, Ottawa Canada pada tahun 1995 dan Nagasaki University, Jepang pada tahun 1998. Penulis telah menulis buku antara lain; Biokimia Hasil Perikanan dan Indeks Mutu Kesegaran Ikan, Jabatan struktural yang pernah diemban adalah: Kepala Laboratorium Kimia Hasil Perikanan, Ketua Jurusan Pengolahan Hasil Perikanan, Kepala Pusat KKT LPM, dan Ketua Lembaga Penelitian Unsrat. Mata kuliah yang diampuh S-1: Biokimia Hasil Perikanan, Enzim Pangan, Penanganan Hasil Perikanan dan Kimia Citarasa; di tingkat S-2: Biokimia Pangan Lanjut, Enzim Pangan, Fisiologi Penanganan Pasca Panen; di tingkat Strata 3: Interaksi Bahan Pangan. Selain kegiatan pendidikan, penulis aktif di Organisasi Profesi Masyarakat Pengolahan Hasil Perikanan Indonesia (MPHPI), dan Perhimpunan Ahli Teknologi Pangan Indonesia (PATPI).

Penulis Pendamping



Dr. Ir. Feny Mentang, M.Sc., lahir di Jakarta, 14 Agustus 1969. Penulis adalah Dosen pada Program Studi Teknologi Hasil Perikanan, Jurusan Pengolahan Hasil Perikanan, Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan (FPIK) Universitas Sam Ratulangi (UNSRAT) Manado. Pendidikan Formal: S-1 Teknologi Hasil Perikanan Unsrat, S-2 Marine Science, Ryukyus University Okinawa, Japan dan S-3 Food Science and Technology, Tokto University of Marine Science and Technology (TUMSAT) Japan. Bidang keahlian difokuskan pada Kimia Pangan Hasil Perikanan (mayor) serta Pangan Fungsional dan Nutraceutical (minor). Mata Kuliah yang diampu pada tingkat S-1, antara lain: Biokimia Hasil Perikanan, Kimia Pangan dan Gizi Hasil Perikanan, Kapita Selekta, Pengendalian Mutu Hasil Perikanan dan Diversifikasi dan Pengembangan Produk Hasil Perikanan. S-2, antara lain Biokimia Pangan Lanjut, Interaksi Bahan Pangan. Penulis sekarang menjabat sebagai Kepala Laboratorium Pengendalian Mutu Hasil Perikanan, FPIK Unsrat, sebagai Pengelola Jurnal Online Media Teknologi Hasil Perikanan, Selain kegiatan pendidikan, penulis aktif di Organisasi Profesi Masyarakat Pengolahan Hasil Perikanan Indonesia (MPHPI) dan Perhimpunan Ahli Teknologi Pangan Indonesia (PATPI).

ISBN 978-602-60359-8-1



9 786026 035981